

BEEINFLUSSUNG DER
EXPERIMENTELL INDUZIERTEN THROMBOSE
BEI DER RATTE DURCH APROTININ

FRANZ XAVER LUTTER

Diss
München
1985



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem
Institut für Experimentelle Chirurgie
der Technischen Universität München
(Direktor: Prof. Dr. med. G. Blümel)
Arbeit angefertigt unter Leitung von
Priv. Doz. Dr. med. vet. Dr. med. habil. W. Erhardt

vorgelegt über
Prof. Dr. med. vet. U. Lösch
Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und
Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

BEEINFLUSSUNG DER
EXPERIMENTELL INDUZIERTEN THROMBOSE
BEI DER RATTE DURCH APROTININ

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Franz Xaver Lutter
aus
Wernfels

München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl
Referent: Prof. Dr. U. Lösch
Korreferent: Prof. Dr. W. Rössner

Tag der Promotion: 22. Februar 1985

MEINEN ELTERN

INHALTSVERZEICHNIS

1.	Einleitung	1
1.1.	Thrombose bei Mensch und Tier	1
1.2.	Entstehung der Thrombose	2
1.2.1.	Hämodynamik und Thrombose	3
1.2.2.	Gefäßwand und Thrombozyt	4
1.2.3.	Der Thrombozyt	5
2.	Beschreibung der Testsubstanzen	8
2.1.	Aprotinin	8
2.2.	Acetylsalicylsäure	11
3.	Entwicklung der Methodik und Vorversuche	14
3.1.	Thrombosemodelle am Tier	14
3.2.	Thrombosemodell nach Harbauer et al	15
3.2.1.	Beschreibung des Modells	15
3.2.2.	Eigene Voruntersuchungen	16
3.3.	Thrombosemodell nach Schmidt und Meng	17
3.3.1.	Beschreibung des Modells	17
3.3.2.	Eigene Voruntersuchungen	18
4.	Material und Methodik	20
4.1.	Vorbereitung der Versuchstiere	20
4.2.	Erzeugung der Endothelschädigung	21
4.3.	Präparation und Wägung der Thromben	23
4.4.	Bewertung der Thromben	24
4.5.	Statistische Methoden	24
4.6.	Herstellung der Präparate für die histologische und rasterelektronenmikroskopische Untersuchung	24
5.	Ergebnisse	26
5.1.	Ergebnisse der Thrombenwägung	26
5.2.	Ergebnisse der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen	30
5.3.	Ergebnisse der histologischen Untersuchungen	34

6.	Diskussion	35
6.1.	Diskussion der Testsubstanzen	35
6.2.	Diskussion der Methodik	36
6.3.	Diskussion der Ergebnisse	39
6.4.	Diskussion der klinischen Relevanz der Ergebnisse	40
7.1.	Zusammenfassung	41
7.2.	Summary	42
8.	Verzeichnis der Literaturquellen	43

1. EINLEITUNG

1.1. THROMBOSE BEI MENSCH UND TIER

Thromboembolische Erkrankungen stellen ein großes Problem für Human- und Veterinärmedizin dar. So wird die Claudicatio intermittens des Pferdes als thrombotische Erkrankung beschrieben (2, 93). Ob die, dieser Krankheit zugrundeliegende Thrombose der Aortenaufteilung auf wandernde Strongylidenlarven (7, 28, 106) oder aber auf Störungen der Hämodynamik, der Gerinnung oder auf mechanisch-traumatische Insulte zurückzuführen ist, sieht einer Klärung noch entgegen (1, 28, 34, 69, 75).

Bei zwei anderen Erkrankungen des Pferdes, der Podotrochlose und der Sesamoiditis, weisen angiographische Untersuchungen (30) und Therapieerfolge mit Antikoagulantien (5) ebenfalls auf eine thrombotische Genese hin.

Bei Hund und Katze werden Aortenverschlüsse vereinzelt als thromboembolische Erkrankung beschrieben (25, 69). Im Ganzen scheinen thromboembolische Erkrankungen beim Tier verhältnismäßig selten aufzutreten.

Während beim Tier die arteriellen Thrombosen, und hier wiederum die mit zumindest vermuteter parasitärer Ätiologie, im Vordergrund stehen (15, 99, 106, 109), haben beim Menschen venöse Thrombosen, postoperative Thromboembolien und Arteriosklerose eine weitaus größere Bedeutung (86). So wird diskutiert, daß die intraoperative Aktivierung der Thrombozyten zur häufigen Komplikation Lungenembolie beiträgt (58). Seit einiger Zeit ist bekannt, daß die Thrombozyten bei der Entstehung der Arteriosklerose eine entscheidende Rolle spielen, daß das Gerinnungssystem also nicht erst zu den Folgeerkrankungen Herzinfarkt und Schlaganfall beiträgt (19).

Ausgehend von der Bedeutung, die den Thrombozyten bei der Entstehung verschiedener Thrombosen zugesprochen wird, diskutiert man seit einiger Zeit die Prophylaxe und Therapie mit Thrombozytenaggregationshemmern. Theoretisch gäbe es vielfältige Einsatzmöglichkeiten (24, 50, 52, 108), doch haben sich z. B. die Hoffnungen auf den Einsatz von Aggregationshemmern bei Coronarer Herzkrankheit und Reinfarktprophylaxe nicht erfüllt (78, 105, 110).

Eine besondere Indikation für Aggregationshemmer kann die Prophylaxe postoperativer thromboembolischer Komplikationen darstellen (63). Leider wird aber durch die irreversible Hemmung der Aggregationsfähigkeit der Thrombozyten (z. B. durch Acetylsalicylsäure) das Blutungsrisiko erhöht. Die reversible Hemmung der Thrombozytenaggregation durch den Proteinaseinhibitor Aprotinin scheint einen Ausweg anzubieten. Diese Wirkung des Aprotinin konnte bereits in vitro (ausschließlicher Wirkungsnachweis einer Substanz im Reagenzglas) und ex vivo (Wirkungsnachweis einer Substanz im Reagenzglas, nach Applikation der Substanz an Mensch oder Tier) nachgewiesen werden (29, 41, 44, 45, 58). Da bisher noch keine in vivo Untersuchungen (Wirkungsnachweis an Mensch oder Tier) darüber vorliegen, soll in dieser Arbeit der postulierte antithrombotische Effekt von Aprotinin an einem Tiermodell untersucht und mit der bekannten antithrombotischen Wirkung der Acetylsalicylsäure verglichen werden.

1.2. ENTSTEHUNG DER THROMBOSE

Trotz vieler neuer Erkenntnisse über Blutgerinnung und Thrombogenese im letzten Jahrhundert und speziell über die Interaktionen von Endothel und Thrombozyten in den letzten Jahren, ist die Virchow'sche Trias immer noch gültig: Veränderungen der Blutströmung, der Gefäßwand

und der Blutgerinnung kennt man seit 1854 als die Ursachen der Entstehung von Thrombosen (33).

Im folgenden soll nun auf die Entstehung von Thrombosen nur insoweit eingegangen werden, als es für die Fragestellung dieser Arbeit von besonderem Interesse ist.

1.2.1. HÄMODYNAMIK UND THROMBOSE

Das Blut fließt in den Gefäßen nicht in gleichmäßiger Durchmischung von zellulären und plasmatischen Bestandteilen. Bedingt durch das Auftreten von Scherkräften kommt es in Richtung auf das Zentrum des Gefäßes zu einem Ansteigen der Strömungsgeschwindigkeit und der Konzentration der schweren zellulären Bestandteile.

Das Gefälle der Strömungsgeschwindigkeit vom Gefäßzentrum zur Gefäßwand wird als Schergeschwindigkeit bezeichnet und ist durch den Quotienten aus Strömungsgeschwindigkeit und Gefäßdurchmesser definiert. Mit steigender Schergeschwindigkeit steigt auch die Umverteilung der zellulären Blutbestandteile: Die schweren Erythrozyten konzentrieren sich im Zentrum, die leichten Thrombozyten werden an den langsamer fließenden Rand des Blutstromes abgedrängt.

Somit sind in Gefäßen mit hoher Schergeschwindigkeit die besten Voraussetzungen für einen Wandkontakt vieler Thrombozyten und die Bildung eines thrombozytenreichen Abscheidungsthrombus gegeben. Daß die höchsten Schergeschwindigkeiten in Arteriolen und stenosierten Arterien zu finden sind, steht in Einklang mit der pathologisch-anatomischen Erkenntnis, daß thrombozytenreiche Thromben vor allem im arteriellen Gefäßsystem gefunden werden.

Unterstützt wird der beschriebene Mechanismus noch dadurch, daß die plasmatische Gerinnung, die Bildung von Fibrin, sehr viel länger dauert, als die Adhäsion und

Aggregation von Thrombozyten. Im schnell fließenden arteriellen Blut werden so ständig aktivierte Gerinnungsfaktoren abgeschwemmt, und damit das Ablaufen der Gerinnungskaskade verzögert. In den arteriellen Gefäßen kommt es vor allem im Strömungsschatten von thrombozytären Abscheidungsthromben zur Fibrinabscheidung. (4, 21, 85)

1.2.2. GEFÄSSWAND UND THROMBOZYT

Das intakte Gefäßendothel ist bestrebt, durch Sekretion (von Prostacyclin, ADPase, u. a.) und Bindung (von ADP, Serotonin, u.a.) verschiedener Mediatoren die Aktivierung und Adhäsion von Thrombozyten zu verhindern und somit der Entstehung eines Thrombus entgegenzuwirken.

Ist das Endothel geschädigt, so entfallen diese Schutzfunktionen, zudem kommt es durch Unregelmäßigkeiten im Blutfluß zum Kontakt von Thrombozyten mit der geschädigten Gefäßwand, d. h. mit subendothelialen Strukturen. Durch

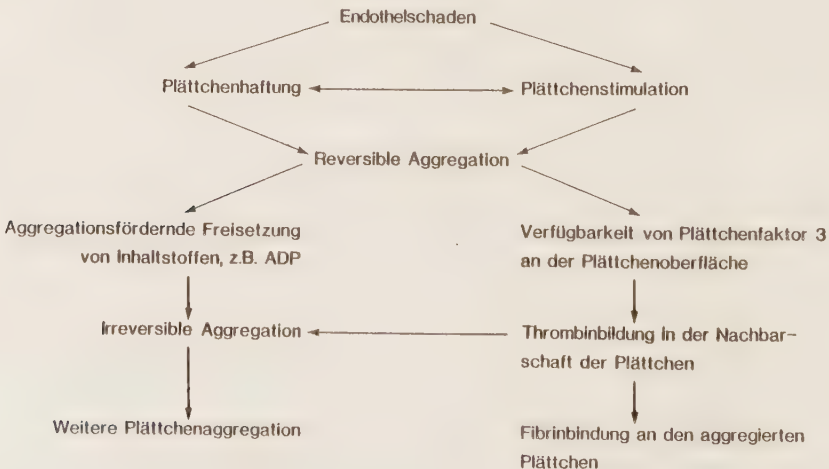


Abb. 1. Plättchenreaktionen bei der Thrombusbildung
(aus Breddin, K.; Krzywanek, H. J.: 11)

den Kontakt mit Kollagen werden die Thrombozyten aktiviert, haften am geschädigten Endothel, aggregieren und setzen Mediatoren frei. Diese Mediatoren führen zur Aktivierung, Adhäsion und Aggregation weiterer Thrombozyten. Diese Reaktion dient dazu, Endotheldefekte bis zur Regeneration der Endothelzellen zu verschließen, sie kann bei Fehlregulation aber auch zur Entstehung von Arteriosklerose oder Thrombose führen. (4, 11, 19, 21, 51, 55)

1.2.3. DER THROMBOZYT

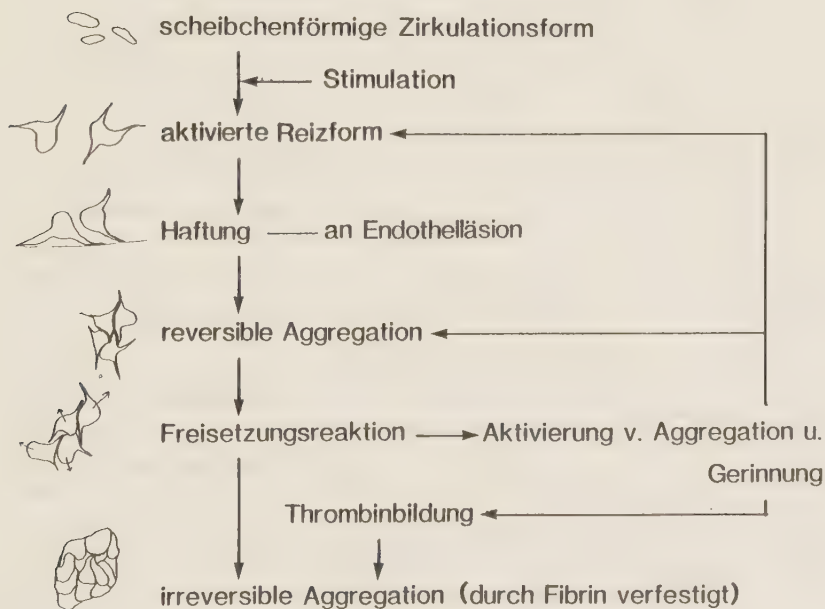


Abb. 2. Thrombozyten bei Blutstillung und Thrombusbildung
(nach Breddin, K.; Krzywanek, H.J.: 11)

Die scheibchenförmigen Thrombozyten können durch verschiedene Reize zu einem raschen Formwechsel angeregt, d. h. aktiviert werden. Verschiedene Mediatoren (Thrombin,

Kollagen, Fibrinogen, Immunkomplexe, Adrenalin, Serotonin, ADP, u. a.) scheinen über Rezeptorbindung die Aktivierung von Thrombozyten auszulösen. Aktivierte Thrombozyten sind in der Lage an der verletzten Gefäßwand (oder an fremden Oberflächen) zu haften und zu aggregieren. Sie setzen dabei ihrerseits Mediatoren frei, die weitere Thrombozyten aktivieren (ADP, Thromboxan, u. a.), prokoagulatorisch (Plättchenfaktor 3), heparinneutralisierend (Plättchenfaktor 4) oder vasokonstriktorisch (Serotonin) wirken.

Die Mechanismen, die zur Aktivierung der Thrombozyten führen, sind erst teilweise geklärt. In praktisch allen

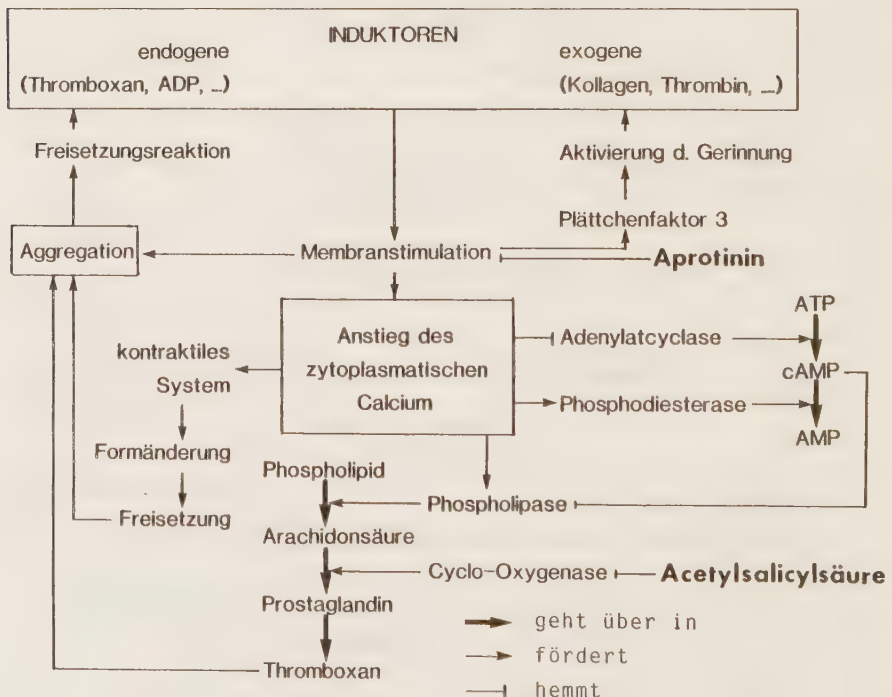


Abb. 3. Die zentrale Rolle von Calcium für die Thrombozytenaktivierung (nach Baumgartner, H. R.: 3)

Gewebe findet man den Hämostase aktivierenden Faktor, der in der Lage ist, auch in hoher Verdünnung eine nahezu vollständige Aktivierung der Thrombozyten zu induzieren und Bedeutung bei der primären Blutstillung zu haben scheint. Im Thrombozyten scheinen Calcium, zyklisches Adenosinmonophosphat und der Prostaglandinstoffwechsel große Bedeutung zu haben. Die zentrale Rolle des Calcium ist in Abbildung 3 dargestellt. Eine Erhöhung der Konzentration von cyclischem Adenosinmonophosphat ist mit einer Stabilisierung der Thrombozyten verbunden, da sie die Bindung von freiem intraplasmatischen Calcium fördert und die Freisetzung der Arachidonsäure (Vorstufe des proaggregatorischen Thromboxan) hemmt. (4, 6, 10, 11, 21, 51, 59, 64, 65, 89, 92, 104)

Berichte über Nebenwirkungen von Aprotinin sind äußerst selten, einzig Hypersensibilität und Anaphylaxie scheinen gelegentlich auftreten zu können (62, 103).

Aprotinin ist ein polyvalenter Proteinaseinhibitor, dessen Inhibitoraktivität an die freie Amino-Gruppe des Lysin-15 gekoppelt ist. Gehemmt werden unter anderem Kallikrein, Trypsin, Chymotrypsin und Plasmin. Nach der Entdeckung des Aprotinin wurde versucht, seinen trypsinhemmenden Effekt bei der akuten Pankreatitis zu nutzen (27, 37, 39). Seit einiger Zeit wird Aprotinin bei polytraumatisierten Patienten eingesetzt (49, 70, 98). Da Aprotinin die hyperproteolytische Aktivität des Plasmas hemmt, soll so das Entstehen einer Schocklungge verhindert werden. Inzwischen deutet sich im Bereich der Gerinnungsstörungen eine weitere Indikation für Aprotinin an (86).

Von den durch Aprotinin gehemmten Enzymen haben Plasmakallikrein und Plasmin eine zentrale Bedeutung im Reaktionsablauf von Blutgerinnung und Fibrinolyse. Die Bildung dieser beiden Proteinase aus den inaktiven Proenzymen Plasmakallikreinogen und Plasminogen wird unter anderem über den aktivierten Faktor XII (Hagemann-Faktor) eingeleitet, der wiederum durch Kontakt mit unphysiologischen Oberflächen gebildet wird. Bei dieser Initialzündung des endogenen Gerinnungssystems entsteht der Hagemann-Faktor durch Umwandlung der Molekülstruktur aus dem inaktiven Faktor XII (Festphasenaktivierung) (42).

Plasmakallikrein bewirkt als Kininogenase die Bildung von Bradykinin und hat außerdem einen positiv rückkoppelnden Effekt auf eine erneute Aktivierung von Faktor XII. Plasmin vermag ebenfalls den Faktor XII zu aktivieren, allerdings wird bei der kallikrein- und plasmininduzierten Aktivierung des Faktors XII der Hagemann-Faktor enzymatisch gespalten (Flüssigphasenaktivierung) (42). Plasmin wirkt aber nicht nur bei der Flüssigphasenaktivierung, sondern

vor allem bei der Aktivierung der Fibrinolyse und des alternativen Aktivierungsmechanismus des Komplementsystems. Außerdem vermag Plasmin den Faktor XIIa in Fragmente zu spalten und damit seine Aktivität von der gerinnungsfördernden in Richtung Kinin-liberierende Aktivität zu verlagern (80).

Seitdem diese Interaktionen von Blutgerinnung, Fibrinolyse, Komplement und Kallikrein-Kinin-System bekannt sind und es somit als gesichert gilt, daß Plasmakallikrein den Stellenwert eines Blutgerinnungsfaktors hat, läßt sich die inhibitorische Wirkung von Aprotinin auf das endogene Gerinnungssystem erklären (97, 111).

Neben einer Verlängerung der partiellen Thromboplastinzeit (PTT) konnte von Denk et al. (20) auch ein protektiver Effekt von Aprotinin auf die Thrombozyten gefunden werden. In Gegenwart von Aprotinin zeigte sich eine signifikante Verminderung der Thrombozytenadhäsivität, bei hohen Dosen von Aprotinin wurde auch die Aggregabilität der Thrombozyten gehemmt. Allerdings war dieser Effekt des Aprotinin reversibel (im Gegensatz zu herkömmlichen Aggregationshemmern, wie der Acetylsalicylsäure).

Daß Aprotinin anders wirkt als die herkömmlichen Aggregationshemmer ist auch daraus ersichtlich, daß die Bildung von Thromboxan durch Aprotinin nicht gehemmt werden kann (42). Von verschiedenen Autoren wird die aprotininbedingte verminderte Thrombozytenaktivität auf eine Membranstabilisierung zurückgeführt. Sie diskutieren eine Interaktion des Proteinaseinhibitors mit membrangebundenen Enzymen der Thrombozyten (48, 90, 91).

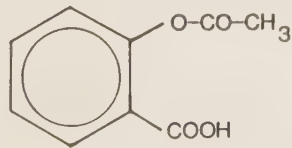
Seit einiger Zeit liegen nun Berichte über den Einsatz von Aprotinin beim alloarthroplastischen Hüftgelenkseratz vor (29, 45, 58). Das hohe Risiko thromboembolischer

Komplikationen bei dieser Operation wird auf operationsbedingte Schäden an großkalibrigen Venen, Torsionen der Vena femoralis und auf die umfangreiche Freisetzung gerinnungsaktiver Substanzen zurückgeführt. Da hier die thrombozytäre Komponente der intravasalen Gerinnung im Vordergrund steht, läßt sich das thromboembolische Risiko durch Heparin zwar nachweislich reduzieren, aber nicht gänzlich ausschalten. Der Einsatz von Thrombozytenaggregationshemmern (wie z. B. der Acetylsalicylsäure) ist nicht geeignet, dieses Restrisiko zu vermindern, da es durch die irreversible Hemmung der Thrombozytenfunktion zu einer erhöhten Blutungsneigung kommt

Nach präoperativer Verabreichung von Aprotinin kommt es, ohne daß vermehrt Blutungen auftreten, zu einer eindeutigen, aber reversiblen Hemmung von Thrombozytenaggregabilität und -adhäsivität. Der stärkste Effekt zeigt sich sofort nach Infusion der Substanz. Mit dem Sinken der Plasmakonzentration verringert sich auch die Wirkung. Nach sechs Stunden ist eine Beeinflussung der Thrombozyten nicht mehr nachweisbar (58).

2.2. ACETYLSALICYLSÄURE (ASS)

Abb. 5. Strukturformel der
Acetylsalicylsäure



Die ASS wird nach oraler Verabreichung rasch in Magen und Dünndarm resorbiert. Nach 30 Minuten sind Plasmakonzentrationen nachweisbar, die bei einmaliger Dosierung nach ein bis zwei Stunden ihr Maximum erreichen (57, 100). Bedingt durch die schnelle Hydrolysisierung (zu Salicylsäure) hat die ASS nur eine Halbwertszeit von 30 Minuten. Die Salicylsäure hat eine Plasmahalbwertszeit von drei bis acht Stunden und wird vor allem über die Niere ausgeschieden.

Die Metabolisierung erfolgt in vielen Geweben, vorwiegend aber in der Leber (57).

Auch die kurzfristige Einnahme von ASS kann unter anderem zu Übelkeit, Durchfall, Allergie, Magenulzerationen und -blutungen führen (12, 32, 57, 87).

Die Anwendung der ASS ist wegen ihrer starken analgetischen, antipyretischen und antiphlogistischen Wirkung seit langem weit verbreitet. Seit einiger Zeit versucht man, den früher nur als ungünstige Nebenwirkung betrachteten Effekt der Thrombozytenaggregationshemmung therapeutisch zu nutzen.

In vitro und ex vivo verhindert die ASS die Aggregation und Freisetzungsreaktion der Thrombozyten, nicht aber die Adhäsion. Ursache dieser Hemmung der Thrombozytenfunktion ist die Acetylierung des aktiven Zentrums der Cyclo-Oxygenase, die aus Arachidonsäure eine Vorstufe des Thromboxan synthetisiert. Thromboxan scheint für die Aggregation und Freisetzungsreaktion verantwortlich zu sein (50). Da der kernlose Thrombozyt nicht zur Proteinsynthese fähig ist, führt die irreversible Hemmung der Cyclo-Oxygenase auch zu einer irreversiblen Hemmung der genannten Thrombozytenfunktionen.

Die verschiedenen Ergebnisse von in vivo Untersuchungen (experimentelle Thrombose am Tiermodell und klinische Studien) werden zum Teil auf die unterschiedlichen Dosierungen der ASS zurückgeführt (50). Durch höhere ASS-Dosen soll auch die endothelständige Cyclo-Oxygenase und damit die Synthese des stark antiaggregatorischen Prostacyklin gehemmt werden (89).

Allerdings wird auch davon berichtet, daß die anti-thrombotische Wirkung der ASS verstärkt werden kann, wenn höher dosiert wird, als es zur vollständigen Hemmung der

thrombozytären Cyclo-Oxygenase notwendig wäre (13, 40, 113). Auch eine dosisabhängige Blutungszeitverlängerung und Dauer der Aktivierungshemmung (40) deuten darauf hin, daß an der antithrombotischen Wirkung der ASS weitere, bisher noch unbekannte Mechanismen beteiligt sind.

Während ASS ein sicherer Hemmer der Thrombozytenfunktion ist (9), ist der erwartete antithrombotische Effekt, je nach Versuchsaufbau und Dosierung unterschiedlich stark und teilweise nicht signifikant (14, 23, 40, 60, 74, 84, 96, 107, 112, 113).

Aufgrund verschiedener klinischer Studien wird die Anwendung von ASS bei bestimmten Indikationen als zusätzliches oder alleiniges Thromboseprophylaktikum empfohlen (52, 63, 64, 105, 108, 110).

Trotz der noch immer bestehenden Unsicherheit über die Wirkung und den Wirkungsmechanismus der ASS ist die Verwendung als "Standardantithrombotikum" (9) in dem in dieser Arbeit gewählten Versuchsmodell gerechtfertigt, da bereits Berichte über den antithrombotischen Effekt der ASS bei diesem Thrombosenmodell vorliegen (74, 95).

3. ENTWICKLUNG DER METHODIK UND VORVERSUCHE

Um die antithrombotische Wirkung von Aprotinin zu prüfen und mit der von Acetylsalicylsäure zu vergleichen, ist es zunächst notwendig, ein geeignetes Tiermodell zu finden. Da beide Substanzen die Funktion der Thrombozyten beeinflussen, muß deren Beitrag zur Thrombogenese in dem zu wählenden Thrombosemodell besondere Berücksichtigung finden.

3.1. THROMBOSEMODELLE AM TIER

Trotz der Vielzahl der Thrombosemodelle am Tier (83) gibt es bis heute kein allgemein anerkanntes Modell zur Simulation der Thrombose beim Menschen (9). Es ist also notwendig, beschriebene Thrombosemodelle auf ihre Anwendbarkeit für diese Arbeit hin zu untersuchen.

Die vielfach dargestellten Modelle mit einer isolierten Aorta (3, 18, 23), der extracorporale Shunt (67, 82, 88) sowie einige andere wurden nicht weiter verfolgt, da sie nur einen Teil des Gerinnungssystems berücksichtigen und damit keinen wesentlichen Fortschritt gegenüber in vitro und ex vivo Versuchen bedeuten.

Das Thrombenwachstum an einem in die Vena Cava oder in die Aorta eingeführten Draht (60, 77), an einem in die Aorta eingeführten Polyethylenkatheter (14) und die durch Injektion von Kollagen (66, 96), Thromboplastin (94) oder aktivierten Faktor XI (112) erzeugte Thrombose laufen ohne die Beteiligung des Endothels ab und kommen deshalb nicht zur Anwendung. Auch die Injektion von aktiviertem Plasma in ein ligiertes Gefäßstück (101) ist nicht geeignet, da es dabei zu einem Stasethrombus, d. h. zu einer Fixierung aller Blutbestandteile im Fibrinmaschenwerk kommt und die gewünschte besondere Be-

rücksichtigung der Thrombozyten fehlt.

Für die Fragestellung besser geeignet scheinen die Modelle zu sein, die auf einer Thrombenbildung an einem artifiziell geschädigten Endothel basieren. Die den Modellen zugrundeliegende Endothelschädigung wird durch Strom (8, 40, 53, 84), Chemikalien (16, 17, 53, 79, 112), Laser (36, 61, 71, 73, 103), Vereisung (33, 35, 38, 43, 68, 71, 73, 74, 95, 112) oder Quetschung des Gefäßes (46, 47) erzeugt. Ebenfalls beschrieben ist die Entfernung des Endothels durch einen gefäßchirurgischen Eingriff (16, 17) oder unter Zuhilfenahme eines Ballonkatheters (23, 64).

Unter Berücksichtigung der von Breddin (9) benannten Grundvoraussetzungen für ein Thrombosemodell scheinen die Modelle von Harbauer et al. (46, 47) und von Schmidt (95) und Meng (73, 74) für diese Arbeit am besten geeignet zu sein.

3.2. THROMBOSEMODELL NACH HARBAUER ET AL (46, 47)

3.2.1. BESCHREIBUNG DES MODELLS

Am narkotisierten Versuchstier (Ratte oder Kaninchen) wird die Vena jugularis externa freipräpariert und parallel zur Vene wird ein Mandrin ($\emptyset = 1,2$ mm beim Kaninchen) angelegt. Um Mandrin und Vene wird eine feste Ligatur gelegt. Nach Herausziehen des Mandrins aus der Ligatur entsteht in der Vene eine partielle Stenose von 1,2 mm lichter Weite. Zusätzlich liegt an dieser Stelle eine durch das Festziehen der Ligatur erzeugte zirkuläre Endothelquetschung vor. Harbauer et al verfolgen nun die durch Abscheidung von thrombotischem Material an der Endothelläsion entstehende Flußveränderungen mit Doppler oder Flowmeter. Die Signalveränderungen im Verlauf von zwei Stunden werden aufgezeichnet. Das Sistieren des Blutflusses (0-Signal von Doppler oder Flowmeter) wird als Okklusion bewertet und zur Auswertung herangezogen.

Im Gegensatz zur einfachen Durchführbarkeit der Thrombose-erzeugung steht die nicht befriedigende Beurteilung des Thrombenwachstums mit Doppler und Flowmeter. Einzig das Nullsignal erbringt eine eindeutige Aussage, bei beiden Geräten ist von einer Signaländerung nicht sicher auf eine Veränderung der Thrombengröße zu schließen. Somit ist eine sichere Beurteilung nur anhand des Vorliegens einer Okklusionsthrombose möglich. Da eine differenzierte Beurteilungsmöglichkeit angestrebt wird, gilt es, das Modell entsprechend zu verändern. Ein weiteres Problem besteht darin, daß das Ausmaß der Endothelläsion davon abhängig ist, mit welcher Kraft die Ligatur um Gefäß und Mandrin festgezogen wird.

Zunächst ist es aber notwendig, die Anwendbarkeit dieses Modells an einem arteriellen Gefäß zu prüfen. Wie in der Einleitung bereits erwähnt, ist in einer stenosierten Arterie ein plättchenreicher Thrombus zu erwarten (4) und damit eine wesentliche Voraussetzung für die Prüfung von Aprotinin erfüllt. Für die Erzeugung der Thrombose bietet sich die Arteria carotis communis der Ratte an, da dieses Gefäß ohne größere Traumatisierung sicher aufzufinden und relativ leicht freizupräparieren ist.

3.2.2. EIGENE VORUNTERSUCHUNGEN

In ersten Vorversuchen wird das Modell, bei Verwendung eines kleineren Mandrins ($\emptyset = 0,7$ mm), an der Arteria carotis communis von Ratten angewendet. Bei der Beurteilung der Thrombenbildung mit einem Doppler sind die Ergebnisse mit denen von Harbauer et al (46) vergleichbar. Nun soll durch Wägung der Thromben eine differenziertere und zugleich direktere Beurteilung der antithrombotischen Wirkung der Testsubstanz ermöglicht werden. Allerdings sind die auffindbaren Thromben bereits ohne Medikation stets sehr klein. Bei einer nach Applikation der Testsubstanz zu erwartenden weiteren Verringerung der

Thrombengröße ist mit einem Unterschreiten der Wägbareitsgrenze zu rechnen. Zudem ist häufig, trotz Stase, keine makroskopisch sichtbare Thrombenbildung feststellbar. Die Veränderung von Mandrin- und Fadenstärke führt zu keiner befriedigenden Verbesserung der Ergebnisse.

Da zusätzlich noch das Problem der Standardisierung der Endothelläsion besteht (die Kraft, mit der die Ligatur festgezogen wird, ist nicht exakt definiert) wird auf weitere Versuche mit diesem Modell verzichtet.

3.3 THROMBOSEMODELL NACH SCHMIDT (95) UND MENG (73, 74)

3.3.1. BESCHREIBUNG DES MODELLS

Schmidt beschreibt die Erzeugung von Thromben in der Vena jugularis externa von Ratten durch Unterkühlung. Die freipräparierte V. jug. ext. wird zwei Minuten lang mit 200 Gramm gegen einen mit Kühlmittel (-15°C) durchflossenen Metallstab gepresst. Die erzeugten Thromben werden durch Gewichts- oder Hämoglobinbestimmung bewertet. Schmidt stellt eine gute Korrelation zwischen dem Thrombengewicht und dem Hämoglobingehalt der venösen Thromben fest.

Von anderen Autoren wird das Modell für die Erzeugung von Thromben in der Arteria carotis communis von Ratten modifiziert (33, 35, 45, 74). Dabei wird nach der Unterkühlung der Arterie der Blutfluss durch Anlegen eines Silberclips distal des geschädigten Gefäßabschnittes gedrosselt. Somit entsteht ein Thrombus an einer Endothelläsion in einer stenosierten Arterie.

3.3.2. EIGENE VORUNTERSUCHUNGEN

Nach ersten positiv verlaufenen Vorversuchen (bei denen keine Korrelation zwischen Hämoglobingehalt und Gewicht der arteriellen Thromben festgestellt werden kann), wird untersucht, ob die empfohlene Äthernarkose (95) nicht durch eine ungefährlichere Narkosemethode ersetzt werden könnte. Zu diesem Zweck werden Versuche mit der intravenös zu applizierenden Injektionsnarkose mit Propanidid (Epontol^R, Bayer, 0,1 - 0,15 g/kg KG nach Wirkung dosiert) durchgeführt (71). Da Propanidid eine zu geringe narkotische Breite zeigt und eine Verdünnung nicht möglich ist (Vom unverdünnten Propanidid müssen bereits 1 - 1,5 ml injiziert werden), kann dieses Narkotikum nicht eingesetzt werden. Bei Verwendung des ebenfalls intravenös zu applizierenden Alfentanil-Etomidat (in klinischer Prüfung, Janssen, 0,3 - 1,0 ml/kg KG nach Wirkung dosiert) scheiden die Ratten blutigen Urin aus. Damit ist eine Beeinflussung des Gerinnungssystems durch Alfentanil-Etomidat nicht auszuschließen und dieses Narkotikum für die Versuchsdurchführung nicht geeignet.

Die intramuskulär zu verabreichende Kombinationsnarkose mit Xylazin (Rompun^R, Bayer, 16 mg/kg KG) und Ketamin (Ketanest^R, Parke-Davis, 100 mg/kg KG) (22) führt nicht zu offensichtlichen Nebenwirkungen, die den Versuchsablauf beeinträchtigen können. Allerdings ist neben einer unerwartet hohen Streuung der Thrombengewichte die Zahl der Tiere sehr groß, die Okklusionsthromben oder keine Thrombenbildung zeigen (Tab. 1.).

Zur Durchführung der Versuche wird deshalb auf die Inhalationsnarkose mit Äther (76, 102) zurückgegriffen, mit der bereits reproduzierbare Ergebnisse mit einer für in vivo Untersuchungen akzeptablen Streuung erzielt wurden (33, 35, 45, 74). Dabei kann auf die Prämedikation mit Droperidol (Dehydrobenz-

peridol^R, Janssen, 7,5 mg/kg KG intramuskulär) nicht verzichtet werden, da sie die effektive Dosis von Äther herabsetzt.

Anzahl der Versuche	28
Wägbare Thromben	13
Okklusionsthromben	7
Keine Thrombenbildung	8
Thrombengewichte in µg	38 76 93 141 147 180 214 216 259 268 378 717 748
Durchschnittsgew. d. Thromben in µg	267,308
Standardabweichung	± 225,222
Standardfehler	± 62,456

Tab. 1. Auflistung, sowie Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler der Thrombengewichte unter Narkose mit Xylazin/Ketamin

4. MATERIAL UND METHODIK

4.1. VORBEREITUNG DER VERSUCHSTIERE

Als Versuchstiere werden männliche Wistar-Ratten vom Stamm CHbb/Thom verwendet. Die fünf Monate alten Tiere haben ein Durchschnittsgewicht von 500 g (420 g - 560 g) und erhalten bis zum Versuchstag Wasser und Standarddiät R 10 (Altromin) ad libitum. Bis zur Versuchsdurchführung werden die Ratten in einem klimatisierten Stall (21°C Raumtemperatur, 55% relative Luftfeuchtigkeit, Tag-Nacht-Lichtschaltung im 12-Stunden-Intervall) in Gruppen von je fünf Tieren in einem Käfig (Makrolon^R, Typ 4) gehalten.

Zunächst erhalten alle Tiere Droperidol (Dehydrobenzoperidol^R, Janssen, 7,5 mg/kg KG intramuskulär) zur Sedierung. Nach etwa zehn Minuten werden sie in einem Glasgefäß mit Ätherdampf narkotisiert. Bei Bedarf kann die Narkose durch eine Äthermaske (äthergetränkter Wattebausch in kleiner Plastikflasche) vertieft oder verlängert werden.

Zur Versuchsdurchführung werden die Tiere randomisiert und einer der drei Gruppen (A, B und C) zugeteilt.

Folgende Substanzen werden injiziert:

A: NaCl, 0,9%-ig, 2ml/kg KG

B: Aprotinin (Trasylo^R, Bayer, 10.000 KIE/ml (KIE: Kallikrein-Inaktivator-Einheit, s. S. 8), gelöst in 0,9%-iger NaCl-Lsg.), 20.000 KIE/kg KG

C: Acetylsalicylsäure (Aspisol^R, Bayer, 0,1 g/ml. Die Aspisol^R-Lösung wurde mit 0,9%-iger NaCl-Lösung auf eine Konzentration von 2 mg/ml verdünnt), 4 mg/kg KG

Die Injektion der Testsubstanzen erfolgt intravenös in eine Schwanzvene. Dazu wird ein selbst hergestelltes Injektionssystem verwendet. Eine Injektionskanüle Nr. 17

(0,55 x 25 mm) wird in der Mitte abgebrochen und mit einem Polyethylenschlauch um 2 cm verlängert. Das Einstechen in die gestaute Vene erfolgt unter Zuhilfenahme einer anatomischen Pinzette. Bei richtiger Lage der Kanüle fließt Blut in den Schlauch zurück. Nach Lösen des Staus erfolgt die langsame Injektion der Testsubstanzen. Die korrekte Injektion ist daran erkennbar, daß nach Absetzen der Injektionsspritze wieder Blut im Schlauch sichtbar wird.

4.2. ERZEUGUNG DER ENDOTHELSCHÄDIGUNG

Nach der Injektion der Testsubstanz werden die Tiere in Rückenlage auf einer Korkplatte fixiert. In der Medianlinie der ventralen Halsseite wird ein etwa 3 cm langer Hautschnitt durchgeführt. Subcutanes Bindegewebe und Speicheldrüsen werden beiseitegeschoben und der Musculus sterno-hyoideus und der Musculus sternocleidomastoideus der linken Seite stumpf voneinander getrennt. Zwischen Musculus omohyoideus und Trachea findet man die Arteria carotis communis und den Nervus vagus bindegewebig miteinander verbunden. Die Arterie wird unter Zuhilfenahme zweier Nakayama Pinzetten sorgfältig von Nerv und Bindegewebe getrennt. Diese Präparation muß äußerst vorsichtig erfolgen, um Gefäßverletzungen (die stets Okklusionsthromben zur Folge haben) und eine Vagusreizung zu vermeiden.

Das auf eine Länge von 2 cm frei präparierte Gefäß wird etwa 1 cm über das Hautniveau angehoben und der Kühlstab untergeschoben. Der mit Glycerin eisfrei gehaltene Kühlstab (das Glycerin wird vor dem Unterschieben unter das Gefäß sorgfältig entfernt) wird von einem Kühlmittel (gekühlt in der Kühlmaschine Typ FK 2, Colora Messtechnik, Lorch/Württ.) durchflossen und hat eine Oberflächentemperatur von -12°C. Mit einem Andruckstempel und einem 200 g schweren Gewicht wird die Arterie zwei Minuten lang

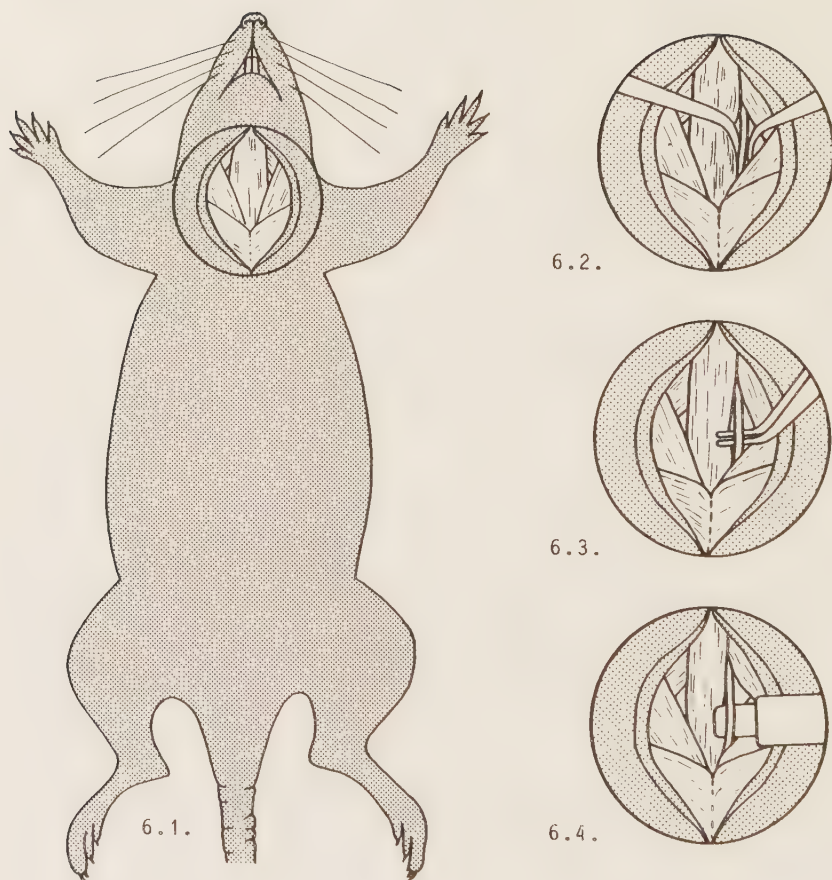


Abb. 6. Schematische Darstellung der Präparation und Unterkühlung der Arteria carotis communis

- 6.1. Übersicht nach Hautschnitt und Freilegen der Muskulatur
- 6.2. Lage der Arteria carotis communis in der Tiefe zwischen den Muskeln
- 6.3. Die Arterie ist mit einer Nakayama Pinzette angehoben
- 6.4. Der Kühlstab ist unter die Arterie geschoben

an den Kühlstab gedrückt. Danach wird sie mit den Nakayama Pinzetten vorsichtig abgehoben und nach dem Rollpumpenprinzip bis zum Wiedereintreten der arteriellen Pulsation massiert. Anschließend wird distal des unterkühlten Gefäßabschnittes ein Clip aus Feinsilberband (2 x 0.2 mm) mit einem Schenkelabstand von 0,15 mm vorsichtig angelegt und somit der Blutfluss gedrosselt.

Anschließend wird die Arteria carotis communis in ihre ursprüngliche Lage reponiert und die Haut mit Sultanschen Diagonalheften verschlossen. Bis zur Thrombenentnahme (vier Stunden nach Vereisung) verbleiben die Ratten einzeln in Käfigen (Makrolon^R, Typ 3), in denen sie sich unter leichter, abklingender Droperidolsedierung frei bewegen können.

4.3. PRÄPARATION UND WÄGUNG DER THROMBEN

Vier Stunden nach der Unterkühlung wird die geschädigte Arteria carotis communis entnommen. Fünfzehn Minuten vorher erhalten die Versuchstiere 10.000 I.E./kg KG Heparin-Natrium (Thrombophob^R, Nordmark) subcutan injiziert, um Gerinseln während der Präparation zu vermeiden. Unmittelbar vor der Gefäßentnahme werden die Tiere mit Xylazin (Rompun^R, Bayer, 16mg/kg KG) und Ketamin (Ketanest^R, Parke-Davis, 100 mg/kg KG) anästhesiert. Die Arteria carotis communis wird wie beschrieben dargestellt. Proximal des unterkühlten Gefäßabschnittes und distal des Clips wird sie abgeklemmt und das isolierte Gefäßsegment abgesetzt. In einer feuchten Kammer (Petrischale mit Korkplatte, NaCl-getränkt) werden die Klemmen gelöst und das Gefäß auf der Korkplatte fixiert. Unter mikroskopischer Sicht (Operationsmikroskop Mentor CM III, Mentor Div. Randolph/Mass., USA) wird das Gefäß unter Schonung des möglicherweise entstandenen Thrombus längs eröffnet. Mit einer Drahtöse (aus 0,15 mm starkem Stahldraht lichter Ösendurchmesser 0.5 mm) wird der Thrombus

von der Wand gelöst und aufgenommen. Öse und Thrombus werden auf eine Aluminiumfolie gelegt und sofort auf einer Mikro-
waage (Typ 2405, Fa. Sartorius, Göttingen) gewogen. Um
unterschiedliche trocknungsbedingte Gewichtsverluste zu
vermeiden, muß die Zeit zwischen Thrombenentnahme und
Wägung stets gleich sein. Das Thrombengewicht wird durch
Differenzbildung aus dem Gesamtgewicht und dem vorher er-
mittelten Gewicht von Öse und Aluminiumfolie errechnet.

4.4. BEWERTUNG DER THROMBEN

Das Auftreten von Okklusionsthromben und das Fehlen einer
Thrombenbildung wird numerisch erfasst, geht aber nicht
in die Berechnung des mittleren Thrombengewichts ein. Das
Vorliegen eines Okkulsionsthrombus ist bereits bei der Ge-
fäßentnahme am Fehlen der arteriellen Pulsation distal
der artifiziellen Stenose erkennbar. Unter Fehlen einer
Thrombenbildung werden auch die minimalen thrombotischen
Wandablagerungen eingereicht, die unterhalb der Wägbarkeits-
grenze liegen.

4.5. STATISTISCHE METHODEN

Zur statistischen Auswertung der Ergebnisse der Thromben-
wägung werden Mittelwert, Standardabweichung, Standard-
fehler und Signifikanz (nach Student-t-Test und U-Test
nach Wilcoxon-Whitney-Mann) berechnet (PDP-11, DEC,
Maynard/Mass., USA).

4.6. HERSTELLUNG DER PRÄPARATE FÜR DIE HISTOLOGISCHE UND RASTERELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG

Um die Endothelschädigung zu dokumentieren und etwaige
feingewebliche Unterschiede der Thromben in den drei
Vergleichsgruppen sichtbar zu machen, werden histolo-
gische und rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

durchgeführt. Die Vorbereitung der Tiere, die Präparation des Gefäßes, die Erzeugung der Kälteschädigung und die Entnahme des Gefäßes werden wie unter 4.1. bis 4.3. beschrieben vorgenommen.

Für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung werden die Gefäße nach Entnahme längs eröffnet, mit Ringer-Lactat-Lösung gespült und auf eine kleine Korkplatte aufgespannt. Nach 24-stündiger Fixierung in 1%-igem Glutaraldehydpuffer werden die Präparate in Aqua dest. gespült. Anschließend werden sie in aufsteigender Alkohol- und Amylestërreihe entwässert und nach Trocknung (Critical Point Dryer, E 3.000, Polaron Equipment Ltd., GB) mit Gold bedampft (Mini Coater MC 100, Commonwealth Scientific Corporation, Alexandria/Virginia, USA). Durch die Goldbedampfung wird die für die Untersuchung mit dem Rasterelektronenmikroskop (AMR 1.200 B, Fa. Leitz, Wetzlar) notwendige elektrische Leitfähigkeit der Präparatoberfläche erzeugt.

Für die histologische Untersuchung werden die Gefäße nach der Entnahme orthograd mit physiologischer Kochsalzlösung gespült und auf eine kleine Korkplatte aufgespannt. Nach 24-stündiger Fixierung 6%-iger Formalinlösung werden die Präparate mit Wasser gespült. Die Entwässerung mit Alkohol und Intermedien und die Einbettung in Paraffin erfolgt in einem Gewebeeinbettautomaten (Typ Nr. 1.411.00, Fa. PSI, Basel, CH). Nach dem Anfertigen von 5 µm dicken Schnitten werden diese auf Objektträger aufgeklebt und gefärbt (Elastica - Ladewig). Die Untersuchung der histologischen Präparate erfolgt mit einem Univa R Mikroskop (Fa. Reichert, Wien, A).

5. ERGEBNISSE

5.1. ERGEBNISSE DER THROMBENWÄGUNG

	A NaCl	B Aproti- nin	C Acetyl- salicyl- säure
Anzahl der Versuche	32	31	30
Wägbare Thromben	24	20	22
Okklusionsthromben	5	1	1
Keine Thrombenbildung	3	10	7
Thrombengewichte in µg	20 75 90 108 115 126 133 146 155 204 223 235 307 424 442 516 518 522 537 538 540 609 632 633	12 13 15 16 16 19 20 21 27 27 37 39 45 57 63 88 89 200 264 462	11 13 17 18 19 20 23 28 28 30 38 61 64 68 78 154 161 192 211 337 574 608
Durchschnittsgew. d. Thromben in µg	327,000	76,500	125,136
Standardabweichung	± 210,078	± 111,827	± 172,359
Standardfehler	± 42,882	± 25,005	± 36,747
Signifikanzen (nach Student-t-Test und U-Test nach Wilcoxon et al.)	———— p<0,01 ———— ———— p<0,01 —————		

Tab. 2. Auflistung und statistische Auswertung der Thrombengewichte in den drei Versuchsgruppen

Die gemessenen Thrombengewichte und deren statistische Auswertung sind in Tab. 2 dokumentiert. Der Durchschnitt der Thrombengewichte beträgt in der Gruppe B (76,5 μg) nur 23,4% und in der Gruppe C (125,136 μg) nur 38,3% des Durchschnittsgewichts der Gruppe A (327 μg). Deutlich ist auch die unterschiedliche Häufigkeit von Okklusionen und Fehlen einer Thrombenbildung in den drei Gruppen. Während in der Gruppe A fünf Okklusionsthromben auftreten, sind es in den Gruppen B und C jeweils nur einer. Keine Thrombenbildung kann in Gruppe A dreimal, in den Gruppen B und C allerdings zehn- bzw. siebenmal festgestellt werden.

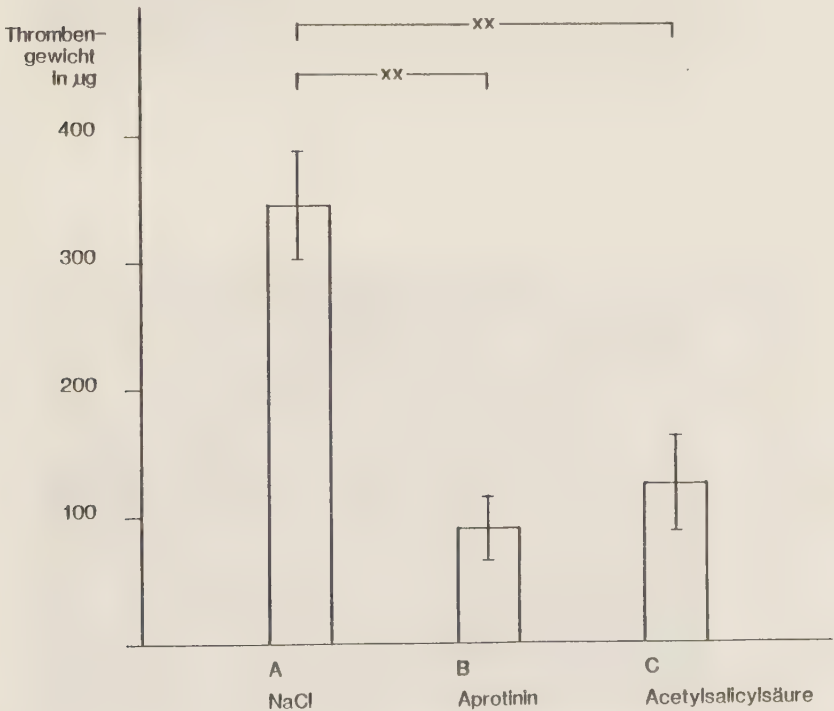


Abb. 7. Graphische Darstellung von Mittelwert und Standardfehler der Thrombengewichte und statistischem Vergleich der Versuchsgruppen (xx : $p < 0,01$)

Der in Tab. 2 und Abb. 7 dargestellte statistische Vergleich der drei Versuchsgruppen (nach Student-t-Test und U-Test nach Wilcoxon-Whitney-Mann) ergibt hoch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen A und B bzw. den Gruppen A und C. Der Unterschied zwischen den Gruppen B und C ist nicht signifikant ($p = 0,28$ im Student-t-Test).

Bei der Einteilung der Thrombengewichte in Gewichtsgruppen (von 50 μg), dargestellt in Tab. 3, fällt in den Gruppen B (Aprotinin) und C (Acetylsalicylsäure) eine deutliche Tendenz zu sehr niedrigen Thrombengewichten (unter 100 μg) auf, während es in der Gruppe A (NaCl) zu einer breiten Streuung kommt. Wenn in dieser Gruppe (A) auch keine eindeutige Tendenz zu einer Gewichtsgruppe vorliegt, so ist doch erkennbar, daß der Anteil hoher Thrombengewichte wesentlich größer ist als in den Gruppen B und C.

Gew. Gr. in μg	A NaCl	B Aprotinin	C Acetylsalicylsäure
0	•••	••••••••••	•••••••
50	•	••••••••••••••	••••••••••••••
100	••	••••	••••
150	•••••		
200	•	•	•••
250	•••		•
300		•	
350	•		•
400			
450	••		
500		•	
550	•••••••		
600			•
650	•••		•
Okkl.	•••••	•	•

Tab. 3. Verteilung der Thrombengewichte in Gewichtsgruppen

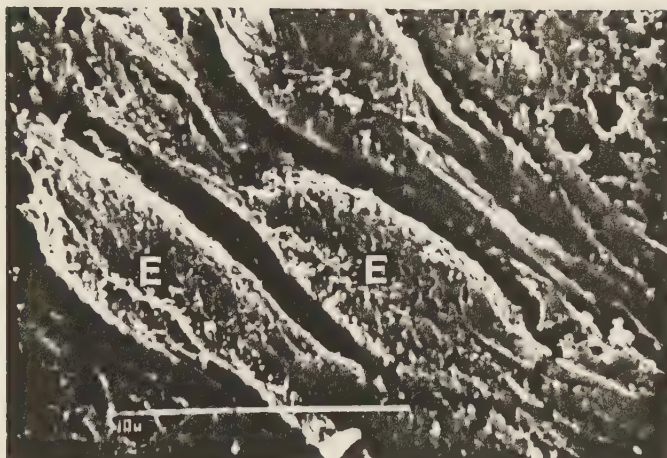


Abb. 8 REM-Aufnahme des Gefäßes vor Kälteschädigung, 6.000-fache Vergrößerung (E: Endothelzelle)



Abb. 9 REM-Aufnahme des Gefäßes unmittelbar nach Kälteschädigung, 6.000-fache Vergrößerung (T: Thrombozyt)

5.2. ERGEBNISSE DER RASTERELEKTRONENMIKROSKOPISCHEN (REM) UNTERSUCHUNGEN

In Abb. 8 bis einschließlich Abb. 12 sind bei 6.000-facher rasterelektronenmikroskopischer Vergrößerung das Endothel (vor der Kälteschädigung) und Auflagerungen auf dem Endothel (nach der Kälteschädigung) dargestellt.

In Abb. 8 ist die nicht geschädigte Oberfläche des Endothels mit deutlich differenzierbaren Endothelzellen dargestellt. Bereits unmittelbar nach der Kälteschädigung sind einzelne Endothelzellen nicht mehr erkennbar (Abb. 9). An der Gefäßwand haften zahlreiche Thrombozyten, deren Pseudopodienformation (als Ausdruck ihrer Reizung) deutlich erkennbar ist.

Das Gefäß, das vier Stunden nach Unterkühlung und Injektion

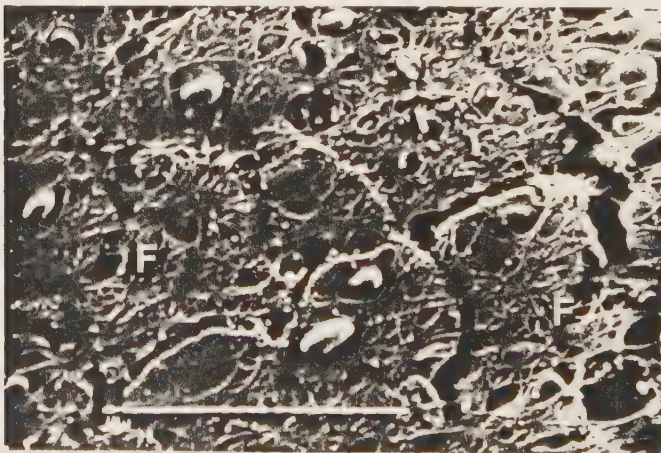


Abb. 10 REM-Aufnahme des Gefäßes vier Stunden nach Kälteschädigung und Injektion von NaCl, 6.000-fache Vergrößerung (F: Fibrinnetz)



Abb. 11 REM-Aufnahme des Gefäßes vier Stunden nach Kälteschädigung und Injektion von Aprotinin, 6.000-fache Vergrößerung (T: Thrombozyt, F: Fibrin, L: Leukozyt)



Abb. 12 REM-Aufnahme des Gefäßes vier Stunden nach Kälteschädigung und Injektion von Acetylsalicylsäure, 6.000-fache Vergrößerung (T: Thrombozyt)

von physiologischer Kochsalzlösung entnommen ist, zeigt bereits makroskopisch eine deutlich sichtbare Thrombenbildung. Die REM-Vergrößerung zeigt ein die thrombotische Masse (eine genaue Differenzierung ist nicht möglich) überziehendes Fibrinmaschenwerk (Abb. 10).

Die vier Stunden nach Unterkühlung und Injektion von Aprotinin, bzw. Acetylsalicylsäure entnommenen Gefäße zeigen makroskopisch nur eine schwache Thrombenbildung. Bei REM-Vergrößerung sind im Acetylsalicylsäurepräparat Thrombozyten erkennbar, die auf einem nicht näher differenzierbaren Untergrund haften (Abb. 12). Im Aprotininpräparat sind Thrombozyten, Fibrin und Leukozyten erkennbar: Die Thrombozyten erscheinen in diesem Präparat (Abb. 11) weniger stark gereizt (schwächere Ausprägung der Pseudopodienbildung) als in Abb. 9 und Abb. 12.



Abb. 13 Gefäßwand vor Kälteschädigung,astica-Ladewig, 190-fache Vergrößerung (E: Endothelzellkern, G: Gefäßblumen, I: Intima, M: Media, A: Adventitia)

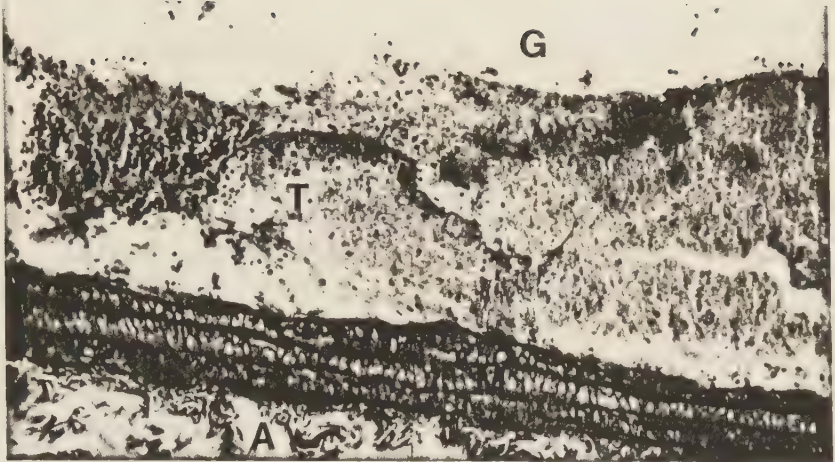


Abb. 14 Gefäßwand nach Kälteschädigung (4 Std.) mit großem Thrombus, Elastica-Ladewig, 47-fache Vergrößerung (T: Thrombus, G: Gefäßlumen, M: Media, A: Adventitia)

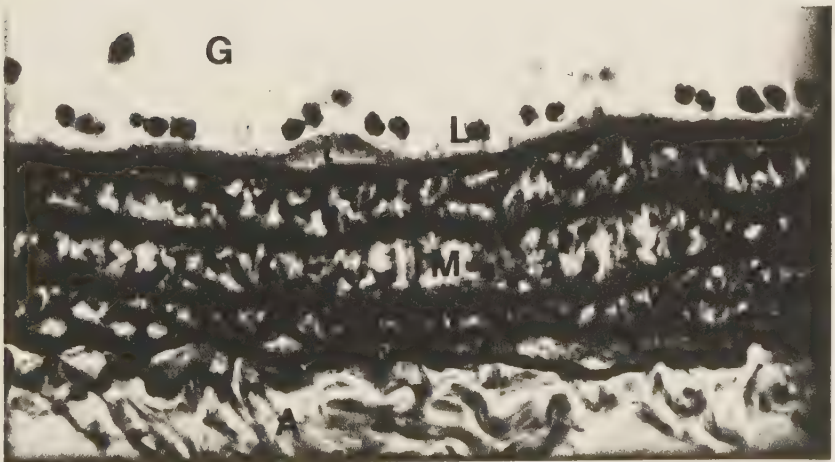


Abb. 15 Gefäßwand nach Kälteschädigung (4 Std.) mit kleinem Thrombus, Elastica-Ladewig, 190-fache Vergrößerung (t: thrombotische Auflagerung, L: Leukozyt G: Gefäßlumen, M: Media, A: Adventitia)

5.3. ERGEBNISSE DER HISTOLOGISCHEN UNTERSUCHUNGEN

Die Präparate der drei Versuchsgruppen unterscheiden sich im histologischen Bild nur durch die Größe der auftretenden Thromben. Ein Unterschied in ihrer Zusammensetzung ist nicht erkennbar. Besonders große Thromben, wie sie gehäuft in der Gruppe A (NaCl) auftreten, zeigen feste Wandhaftung, Schichtung und raue Oberfläche, die typischen Merkmale eines Abscheidungsthrombus (Abb. 14). Die in den Gruppen B (Aprotinin) und C (Acetylsalicylsäure) häufig auftretenden kleinen Thromben bestehen aus dünnen Wandablagerungen, die erst bei stärkerer Vergrößerung deutlich erkennbar sind (Abb. 15).

Die in der Abbildung des ungeschädigten Gefäßes (Abb. 13) sichtbaren Endothelzellkerne sind unter den thrombotischen Auflagerungen (Abb. 13 u. Abb. 14) nicht auffindbar.

6. DISKUSSION

6.1. DISKUSSION DER TESTSUBSTANZ UND DER REFERENZSUBSTANZ

Ausgehend von in vitro und ex vivo Untersuchungen (29, 45, 58) wird ein antithrombotischer Effekt des Aprotinin erwartet, der durch seine Reversibilität als Alternative zur Wirkung herkömmlicher Thrombozytenaggregationshemmer (z. B. in der Hüftgelenkschirurgie), nutzbar wäre. Allerdings kann von in vitro und ex vivo Untersuchungen nicht sicher auf eine in vivo Wirkung geschlossen werden. Deshalb sollte in dieser Arbeit der antithrombotische Effekt des Aprotinin an einem Tiermodell geprüft werden. Da mit der Acetylsalicylsäure ein sicheres Antithrombotikum zur Verfügung steht, das ebenfalls durch die Hemmung der Thrombozytenfunktion wirksam ist, war es naheliegend die Acetylsalicylsäure als Referenzsubstanz zu wählen.

Der Proteinaseinhibitor Aprotinin scheint auch Enzyme der Thrombozytenmembran reversibel zu hemmen und dadurch die Membran stabilisieren zu können. Diese Reaktion wird als Grundlage der beobachteten Hemmung der Thrombozytenfunktion diskutiert (48, 90, 91). Durch die reversible, an die Höhe der Plasmakonzentration gebundene Wirkung des Aprotinin sind nach dessen rascher Ausscheidung die Thrombozyten wieder funktionsfähig. So könnte, z. B. während einer Operation der protektive Effekt des Aprotinin auf die Thrombozyten genutzt werden, ohne daß mit einer langanhaltenden Erhöhung der Blutungsneigung gerechnet werden muß.

Anders verhält sich die Acetylsalicylsäure, die durch Acetylierung der Cyclo-Oxygenase die Thromboxansynthese verhindert und so die Thrombozytenfunktion irreversibel hemmt. Bis durch die medulläre Synthese genügend funktionsfähige Thrombozyten gebildet sind (nach mehreren Tagen) ist nach Applikation von Acetylsalicylsäure mit einer vermehrten Blutungsneigung zu rechnen. Andererseits könnte

dieser Langzeiteffekt der Acetylsalicylsäure z. B. bei der Therapie der Arteriosklerose genutzt werden. Die Hemmung der Thrombozytenfunktion durch die Acetylsalicylsäure wurde lange Zeit beobachtet, ohne daß der Wirkungsmechanismus bekannt war. Blutungen zählen neben den gastrointestinalen Störungen zu den häufigsten Nebenwirkungen bei der Verwendung der Acetylsalicylsäure in ihrer ursprünglichen Indikation als Analgetikum, Antipyretikum und Antiphlogistikum.

6.2. DISKUSSION DER METHODIK

Das ideale Modell für die durchzuführende Untersuchung der antithrombotischen Wirkung des Aprotinin (aber auch für die Prüfung anderer potentiell antithrombotisch wirksamer Substanzen) wäre die "präthrombotische" (72) Ratte die, vergleichbar einem Risikopatienten mit einer erhöhten Thrombose-neigung behaftet ist. Da sich dieser "präthrombotische" Status an der Ratte weder durch Zucht, Diät noch hohes Lebensalter sicher erzeugen läßt, mußte zur Prüfung von Aprotinin auf ein experimentelles Thrombosemodell zurückgegriffen werden.

Nach Prüfung verschiedener in der Literatur beschriebener Thrombosemodelle auf ihre Anwendbarkeit für die durchzuführende Untersuchung wurden zwei Methoden - nach Harbauer et al (46, 47) und nach Schmidt (95)/Meng (73, 74) - in Erwägung gezogen. Bei beiden wird durch Endothelschädigung in einer stenosierten Arterie ein Thrombus mit starker Beteiligung der Thrombozyten erzeugt. Der zur Durchführung beider Modelle notwendige chirurgische Eingriff ist mit einer sehr begrenzten Gewebstraumatisierung verbunden, deshalb ist die über die Endothelschädigung hinausgehende unspezifische Aktivierung des Gerinnungssystems minimal. Durch die geringe individuelle Variation von Größe und Lage des in beiden Modellen gewählten Gefäßes und die dadurch bedingte einfache und gut reproduzierbare Präparationstechnik ist

die Gewebstraumatisierung bei allen Versuchstieren nahezu identisch.

Das Modell nach Harbauer et al (46, 47) zeichnet sich vor allem durch eine sehr einfache Handhabung aus. Allerdings ist die Erzeugung der Endothelschädigung nicht genügend standardisiert und das Gewicht der entstehenden Thromben (möglicherweise bedingt durch die sehr kleine Fläche geschädigten Endothels) sehr niedrig. Somit ist die angestrebte Wägung der Thromben nicht möglich. Die von Harbauer et al beschriebene Beurteilung der Thrombengröße anhand der Blutflußveränderungen im geschädigten Gefäß ist allein nicht aussagekräftig genug. Durch Veränderungen der Kreislauffunktion oder des Gefäßtonus können zu leicht Veränderungen des Blutflusses erzeugt werden, die in keinem Zusammenhang mit dem Thrombenwachstum stehen. In eigenen Vorversuchen mit dem Thrombosemodell nach Harbauer et al konnte eine Stase erzeugt werden, ohne daß eine makroskopisch sichtbare Thrombenbildung vorlag (Kap. 3.2.2.). Die Ursache der Stase (Gefäßspasmus?) konnte nicht ermittelt werden.

Das Thrombosemodell nach Schmidt (95) und Meng (73, 74) bietet den Vorteil einer guten Standardisierung. Die zur Erzeugung der Endothelschädigung verwendete Unterkühlung des Gefäßes ist durch die konkrete Festlegung von Temperatur, Zeit und Anpressdruck exakt definiert. Die für eine befriedigende Standardisierung zu fordernde Kongruenz von Lage und Größe des Gefäßes ist bei der Arteria carotis communis von annähernd gleich schweren Ratten gegeben. Durch rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß die erzeugte Endothelschädigung eine Aktivierung, Adhäsion und Aggregation der Thrombozyten bewirkt.

Die Wägung der Thromben stellt sozusagen eine Momentaufnahme der Thrombenentwicklung dar. Ein chronologischer Verlauf des Thrombenwachstums könnte nur durch zeitlich gestaffelte Parallelversuche an mehreren Tieren untersucht werden.

Im Rahmen der Vorversuche wurden auch verschiedene Narkosemethoden bezüglich ihrer Brauchbarkeit in diesem Modell untersucht. Dabei zeigte sich, daß Propanidid und Alfentanil-Etomidat nicht geeignet sind (Kap. 3.3.2.). Die Anästhesie mit Äther/Droperidol oder Xylazin/Ketamin hat sich bei der Ratte bereits bewährt (22), beide Kombinationsnarkosen scheinen zunächst für die Versuchsdurchführung geeignet. Die größere Streuung der Thrombengewichte und das häufigere Auftreten von Okklusion oder Fehlen einer Thrombenbildung unter Xylazin/Ketamin bewog dazu, die Kombination Äther/Droperidol zu verwenden.

Die schlechtere Reproduzierbarkeit der Thrombenbildung in den Vorversuchen mit der Xylazin/Ketamin-Narkose könnte durch die während dieser Anästhesieform auftretende Veränderung von Blutdruck und Herzfrequenz verursacht sein. Eine signifikante Beeinflussung von Blutgerinnung und Thrombozyten durch Xylazin/Ketamin oder Äther/Droperidol ist nicht bekannt (81). Die geringfügige Gewebsalteration durch die intramuskuläre Applikation des Droperidol wurde zugunsten der Vorteile der Kombinationsnarkose vernachlässigt. Äther und Droperidol ergänzen sich im Sinne einer Neuroleptanalgesie, die durch Nachdosierung von Äther sehr gut steuerbar ist.

Um eine eventuelle Beeinflussung des Thrombenwachstums durch verschieden starke Hämodilution zu vermeiden, mußte den Tieren in den drei Versuchsgruppen die gleiche Volumenmenge injiziert werden. Die dazu notwendige Verdünnung der Acetylsalicylsäure erfolgte zweckmäßigerweise mit dem

Lösungsmittel des Aprotinin, der physiologischen Kochsalzlösung. Der dritten Versuchsgruppe wurde zur Kontrolle der alleinigen Wirkung des Lösungsmittels nur physiologische Kochsalzlösung injiziert.

6.3. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die Ergebnisse dieser Untersuchung belegen, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen und der verwendeten Dosierung Aprotinin ebenso wie Acetylsalicylsäure die Größe der erzeugten Thromben hoch signifikant verringert. Trotz der hohen Streuung der Thrombengewichte in der Vergleichsgruppe A (NaCl) ist dieses Ergebnis nicht nur statistisch, sondern auch optisch erkennbar (Tab. 3).

Die rasterelektronenmikroskopisch sichtbaren Unterschiede der Thromben aus der Aprotinin- und der Acetylsalicylsäuregruppe könnten darauf zurückzuführen sein, daß Aprotinin im Gegensatz zur Acetylsalicylsäure nicht nur die Aggregation, sondern auch die Aktivierung und Adhäsion der Thrombozyten hemmt (29, 50). Thromben gleicher Gewichtsklassen aus allen drei Versuchsgruppen sind in ihrer Zusammensetzung histologisch nicht zu unterscheiden.

Der auf Grundlage von in vitro und ex vivo Untersuchungen postulierte antithrombotische Effekt des Aprotinin konnte somit bestätigt werden. In der angewendeten Dosierung hat Aprotinin im gewählten Thrombosemodell an der Ratte eine mindestens vier Stunden anhaltende antithrombotische Wirkung. Ob dieser antithrombotische Effekt in gleicher Weise beim Menschen oder bei anderen Tierarten erzeugbar ist, muß eigens untersucht werden.

6.4. DISKUSSION DER KLINISCHEN RELEVANZ DER ERGEBNISSE

Da die Wirkung von Aprotinin mit dem Plasmaspiegel der Substanz (Halbwertszeit 30 Minuten) eng korreliert ist, sind die möglichen Indikationen begrenzt. Bei Dauerbehandlung der Arteriosklerose, um nur ein Beispiel zu nennen, wird Aprotinin sicher nicht einsetzbar sein. Hier wären langwirkende Aggregationshemmer, wie die Acetylsalicylsäure, besser geeignet.

Es gibt allerdings auch Indikationen für eine kurzzeitige und damit gut steuerbare Hemmung der Thrombozytenfunktion. Ein Beispiel dafür ist die Operation zum Hüftgelenksersatz, die heute nicht nur in der Human-, sondern auch in der Veterinärmedizin (vor allem beim Hund) durchgeführt wird. Diese Operation, die mit einer massiven Gewebstraumatisierung und Gefäßalteration einhergeht, ist mit einem hohen thromboembolischen Risiko behaftet, das durch den Einsatz von Antikoagulantien nur vermindert werden kann. Verschiedene Untersuchungen legen die Vermutung nahe, daß das Restrisiko thromboembolischer Komplikation durch die Hemmung der Thrombozytenaggregation wesentlich verringert werden könnte (29, 45, 58).

Das Ergebnis der in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchung unterstützt die in Aprotinin gesetzte Erwartung, in der Lage zu sein, die postoperativen Komplikationen des Hüftgelenkersatzes weiter zu verringern. Durch die reversible Wirkung des Aprotinin auf die Thrombozyten sind diese postoperativ wieder vollständig funktionsfähig. Das Risiko vermehrter postoperativer Blutungen ist im Vergleich zur Acetylsalicylsäuremedikation vermindert.

7.1. ZUSAMMENFASSUNG

An insgesamt 93 männlichen Wistar-Ratten wurde experimentell eine Thrombose erzeugt und der antithrombotische Effekt von Aprotinin geprüft. Als Vergleichssubstanz wurde Acetylsalicylsäure, als Kontrollsubstanz physiologische Kochsalzlösung verwendet.

Zur Thrombenerzeugung wurde die modifizierte Methode nach Schmidt und Meng verwendet, die durch Einwirkung von Kälte eine standardisierte Endothelläsion mit darauffolgender Thrombenbildung erzeugt.

In der angewendeten Dosierung von 20.000 KIE/kg KG vermindert Aprotinin das Thrombengewicht hoch signifikant um 76,6%. Rasterelektronenmikroskopisch ist eine Verminderung der Thrombozytenaktivierung und eine Hemmung der Aggregation nachweisbar.

Vor dem Einsatz von Aprotinin als Thromboseprophylaktikum ist die Übertragbarkeit der in dieser Arbeit gefundenen Ergebnisse auf den Menschen oder andere Tierarten durch eine klinische Studie zu prüfen.

7.2. SUMMARY

EFFECT OF APROTININ ON EXPERIMENTALLY INDUCED

THROMBOSIS IN RATS

In 93 male wistar-rats experimental thrombosis was induced and antithrombotic effect of aprotinin was tested. As a reference acetylic acid was used, physiological saline treated animals served as control.

Thrombosis induction was performed by a modified technique according to Schmidt and Meng using local cold to yield a standardized lesion of the endothelium with a consecutive formation of a thrombus.

The weight of thrombus was reduced by 76,6% under the dosis of 20.000 KIE/kg BW of aprotinin. Scanning electron microscopic reveal a reduction of activation of platelets and an inhibition of platelet aggregation.

Before application of Aprotinin as an antithrombotic agent transferability of the results presented in this report has to be tested in clinical trials with humans and other species.

8. VERZEICHNIS DER LITERATURQUELLEN

1. ADAMS, O. R.:
Lameness in horses, Third Ed.
Verl. Lea & Febiger, Philadelphia, USA, 298 - 299 (1974)
2. BACH, E.:
Seltene Fälle aus der Praxis, 6. Thrombose der hintern
Aorta bei einem Pferde
Schweiz. Arch. Tierheilk. 66, 681 (1924)
3. BAUMGARTNER, H. R.:
Effects of Acetylsalicylic Acid, Sulfinpyrazone and
Dipyridamole on Platelet Adhesion and Aggregation in
Flowing Native and Anticoagulated Blood
Haemostasis 8, 340 - 352 (1979)
4. BAUMGARTNER, H. R.:
Blutströmung und Thrombogenese
Internist 25, 75 - 81 (1984)
5. BECKER, M.; HUSKAMP, B.; BOENING, K. J.; PLOCKI v., K. A.:
Erfahrungen mit der Warfarinbehandlung bei der
Podotrochlose und der Sesamoiditis
Prakt. Tierarzt 62, 612 - 614 (1981)
6. BENDER, N.; LÜDER, D.; KIRCHMAIER, C. M.; BREDDIN, K.:
Thrombozytenformwandel induzierender Fettgewebsextrakt
- Herstellung, Haltbarkeit und Anwendung -
in: Loo v. d., J.; Asbeck, F.: Haemostase, Thrombophilie
und Arteriosklerose
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 472 - 475 (1982)
7. BOCH, J.; SUPPERER, R.:
Veterinärmedizinische Parasitologie, 3. Aufl.
Verl. Parey, Berlin - Hamburg, 259 - 264 (1983)

8. BOURGAIN, R.:
An experimental-Model for the Study of Arterial
Thrombosis and Atherogenesis
Acta Clinica Belgica 32, 403 - 408 (1977)
9. BREDDIN, K.:
Voraussetzungen und Anforderungen für
Thrombosemodelle am Tier
in: Breddin, K.; Gross, D.; Rotter, W. (Hrsg.):
Thrombosemodelle am Tier
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 25 - 29 (1981)
10. BREDDIN, K.:
Zum Wirkungsmechanismus und zur Dosierung
thrombozytenfunktionshemmender Medikamente
in: Breddin, K.; Loew, D.; Überla, K.; Dorndorf, W.;
Marx, R. (hrsg.):
Prophylaxe zerebraler, kardialer, peripherer und
venöser Gefäßkrankheiten mit Acetylsalicylsäure
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 9 - 22, (1981)
11. BREDDIN, K.; KRZYWANIEK, H. J.:
Thrombozytär bedingte Thrombosebereitschaft
in: Vinazzer, H. (Hrsg.): Thrombose und Embolie,
Verl. Springer, Berlin - Heidelberg, 43 - 59 (1981)
12. BRUNE, K.:
Prostaglandins, Inflammation and Mild Analgesics
in: Breddin, K.; Gross, D.; Rotter, W. (Hrsg.):
Thrombosemodelle am Tier,
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 231 - 246 (1981)
13. BUSSE, W.-D.; SEUTER, F.:
Zur Wirkung von Acetylsalicylsäure, Dipyridamol und
Sulfinpyrazon in verschiedenen Thrombosemodellen
in: Breddin, K.; Gross, D.; Rotter, W. (Hrsg.):
Thrombosemodelle am Tier,
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 157 - 171 (1981)

14. CATTANEO, M.; CHAHIL, A.; SOMERS, D.;
KINLOUGH-RATHBONE, R. L.; PACKHAM, M. A.; MUSTARD, J. F.:
Effect of Aspirin and Sodium Salicylate on Thrombosis,
Fibrinolysis, Prothrombin Time, and Platelet Survival
in Rabbits With Indwelling Aortic Catheters
Blood 61, 353 - 361 (1983)

15. DAHME, E.:
Thrombose und Embolie der Arterien
in: Joest, E.: Handbuch der Speziellen Pathologischen
Anatomie der Haustiere, Bd. II, 3. Aufl.,
Verl. Parey, Berlin - Hamburg, 311 - 322 (1970)

16. DANESE, C. A.; VOLETI, Ch. D.; WEISS, H. J.:
Protection by Aspirin against Experimentally Induced
Arterial Thrombosis in Dogs
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 25, 288 - 296 (1971)

17. DEATON, H. L.; ANLYAN, W. G.:
A Study of Experimental Methods for Producing
Thrombosis in Small Arteries
Surg. Gynec. Obstst. 111, 131 - 134 (1960)

18. DEJANA, E.; CAZENAVE, J.-P.; HATTON, M. W. C.;
RICHARDSON, M.; GROVES, H. M.; KINLOUGH-RATHBONE, R. L.;
PACKHAM, M. A.; MUSTARD, J. F.:
The Effect of Thrombin on Platelet Accumulation on the
Vessel Wall-Influence of Heparin and Aspirin
Thromb. Haemostas. 50, 567 - 571 (1983)

19. DEMBINSKA-KIEC, A.; RÜCKER, W.; SCHÖNHÖFER, P. S.:
Arteriosklerose: Neue Erkenntnisse zur Entstehung
Umschau 78, 720 - 724 (1978)

20. DENK, S.; BLÜMEL, G.; KUJAT, R.; SOMMOGGY v., St.:
The Different Effects of Natural and Synthetic
Proteinase Inhibitors on Tissue Plasminogen Activators
and Blood Coagulation
in: Cantin, M.; Haberland, G. L.; Schnells, G.; Selye, H.:
New Aspects of Trasylol^R Therapy, Vol 8
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 49 - 59 (1975)

21. DODDS, W. J.:
Blood Coagulation: Hemostasis and Thrombosis
in: Melby, E. C., jr.; Altman, N. H.: Handbook of
Laboratory Animal Science, Vol. II
CRC PRESS, Cleaveland, Ohio, USA, 87 - 116 (1974)

22. ERHARDT, W.; WRIEDT-LÜBBE, I.; SCHMELLER, M.-L.;
NEUMANN, G.; PFEIFFER, Ch.; TÖLLE, W.; BLÜMEL, G.:
Anaesthesiologische Erfahrungen in der experimentellen
Chirurgie
Anaesthesist 28, 359 - 367 (1979)

23. ESSIEN, E. M.; MUSTARD, J. F.:
Inhibition of Platelet Adhesion to Rabbit Aorta by
Sulphinpyrazone and Acetylsalicylic Acid
Atherosklerosis 27, 89 - 95 (1977)

24. EVANS, G.; GENT, M.:
Effect of Platelet Suppressive Drugs on Arterial and
Venous Thromboembolism
in: Hirsh, J.; Gallus, A. S.: Platelets, Drugs and
Thrombosis
Verl. karger, Basel (CH), 258 -262 (1975)

25. EVANS, M. G.:
Aortic thromboembolism in a cat
Vet. Med./Small Anim. Clin. 75, 1150 -1151 (1980)

26. FORTH, W.; RUMMEL, W.:
Antikoagulantien und Fibrinolytika -
Pharmakotherapeutische Beeinflussung der Blutgerinnung
in: Forth, W.; Henschler, D.; Rummel, W.: Allgemeine
und spezielle Pharmakologie und Toxikologie,
Bibliographisches Institut, Mannheim - Wien - Zürich,
251 - 261 (1977)
27. FORTH, W.; RUMMEL, W.:
Pharmakologie und Pharmakotherapie im Bereich des
Gastrointestinaltrakts
in: Forth, W.; Henschler, D.; Rummel, W.: Allgemeine
und spezielle Pharmakologie und Toxikologie,
Bibliographisches Institut, Mannheim - Wien - Zürich,
262 - 282 (1977)
28. FREGIN, C. F.:
Aortoiliac occlusive disease
in: Mansmann, R. A.; McAllister, E. S.; Pratt, P. W. (Hrsg):
Equine Medicine & Surgery, Third Ed., American
Veterinary Publication, Santa Barbara, USA, 685 (1982)
29. FREICK, H.; REUTER, H. D.; PIONTEK, R.:
Ergänzende präoperative Thromboembolieprophylaxe durch
Aprotinin beim alloplastischen Hüftgelenkersatz,
Med. Welt 34, 614 - 619 (1983)
30. FRICKER, C. H.; RIECK, W.; HUGELSDORFER, J.:
Verschluß der Digitalarterien beim Pferd
Tierärztl. Prax. 10, 81 - 90 (1981)
31. FRITZ, H.; WUNDERER, G.:
Biochemistry and Applications of Aprotinin, the
Kallikrein Inhibitor from Bovine Organs
Arzneimittel-Forsch. 33, 479 - 494 (1983)

32. GAETANO de, G.; DONATI, M. B.; GARATTINI, S.:
Drugs Affecting Platelet Function Tests,
Thrombos. Diathes. haemorrh. 34, 285 - 303 (1975)
33. GENG, R.:
Einfluss verschiedener Volumenersatzmittel auf die
Kälteinduzierte Thrombose und verschiedene Parameter
der Blutgerinnung bei der Ratte
Med. Diss., München (1983)
34. GERHARDS, H.; ROSENBRUCH, M.:
Intermittierendes Hinken beim Pferd - Diskussion
äthiologischer und therapeutischer Aspekte an Hand
eines Fallberichtes
Der praktische Tierarzt 65, 645 - 654 (1984)
35. GLEISSNER, F.:
Einfluß des Volumenersatzmittels Hydroxyäthylstärke
auf die experimentell induzierte Thrombose am
Rattenmodell
Vet. med. Diss., München (1980)
36. GÖRÖG, P.; KOVACS, I. B.; BORN, G. V. R.:
Standardization of a Technique for Producing
Platelet Thrombus in very Small and Larger Vessels
by He - Ne Laser Irridation
in: Breddin, K.; Gross, D.; Rotter, W. (Hrsg.):
Thrombosemodelle am Tier
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 105 - 109 (1981)
37. GRÖZINGER, K.-H.:
Hemmkörpertherapie der akuten Pankreatitis
Münch. Med. Wschr. 122, 234 - 236 (1980)

38. GRÜNWALD, M.; SCHLAG, G.; REDL, H.:
Venöse Thrombose bei der Ratte durch lokale Unterkühlung
in: Breddin, K.; Gross, D.; Rotter, W. (Hrsg.):
Thrombosemodelle am Tier
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 125 - 132 (1981)
39. GRUNST, J.; PAUMGARTNER, G.:
Akute Pankreatitis - Klinik, Diagnose und internistische
Therapie
Chirurg 51, 364 - 370 (1980)
40. HAARMANN, W.:
Erfahrungen mit Acetylsalicylsäure, Dipyridamol und
Sulfinpyrazon in verschiedenen Tiermodellen
in: Breddin, K.; Gross, D.; Rotter, W. (Hrsg.):
Thrombosemodelle am Tier
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 173 -187 (1981)
41. HAAS, S.; KAUNZNER, W.; SOMMOGGY v., S.:
Beeinflussung der Thrombozytenfunktion und der
Gerinnung von Konservenblut durch Acetylsalicyl-
säure und Aprotinin
Med. Welt 28, 912 - 914 (1977)
42. HAAS, S.:
Vermeidung von Gerinnungskomplikationen in der
Transfusionsmedizin
Med. Habil.-schrift, München, 76 - 81 u. 83 (1983)
43. HAAS, S.; SÖHNCHEN, R.; GENG, R.; BLÜMEL, G.:
Erfahrungen mit der kälteinduzierten experimentellen
Thrombose
in: Breddin, K.; Gross, D.; Rotter, W. (Hrsg.):
Thrombosemodelle am Tier
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 133 - 146 (1981)

44. HAAS, S.; KETTERL, R.; LANDAUER, B.; LECHNER, F.;
BLÜMEL, G.:
Platelet Function and Proteinase Inhibition
in: McConn, R.: The Role of Chemical Mediators in
the Pathophysiology of Acute Illness and Injury
Raven Press, New York, 219 - 228 (1982)
45. HAAS, S.; KETTERL, R.; STEMBERGER, A.; WENDT, P.;
FRITSCH, H.-M.; KIENZLE, H.; LECHNER, F.; BLÜMEL, G.:
The Effect of Aprotinin on Platelet Function, Blood
Coagulation and Blood Lactate Level in Total Hip
Replacement - A Clinical Double Blind Trial
Adv. Exp. Med Biol. 167, 287 - 297 (1984)
46. HARBAUER, G.; HILLER, W.; UHL, U. J.; WENZEL, E.:
A venous thrombosis model in the rabbit
in: Breddin, K.; Zimmermann, R.: Standardization of
animal models of thrombosis,
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 115 - 119 (1983)
47. HARBAUER, G.:
Persönliche Mitteilung (1984)
48. HARKE, H.; GENNRICH, M.:
Aprotinin-ACD-Blut. I. Experimentelle Untersuchungen
über den Einfluß von Aprotinin auf die plasmatische
und thrombozytäre Gerinnung,
Anaesthesist 29, 266 - 276 (1980)
49. HARKE, H.; STIENEN, G.; SCHÄFER, W.; GENNRICH, M.:
The Effect of Aprotinin-ACD-Blood on Pulmonary Function,
Anesthesiology 53, 163 - 171 (1980)
50. HEPTINSTALL, S.; MITCHELL, J. R. A.:
Antiplatelet Therapy. Mode of Action and Clinical Value
in: Loo van de, J.: The Thromboembolic Disorders
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 129 - 157 (1983)

51. HESS, H.; MARSHALL, M.:

Die Bedeutung der Gefäßwandbluthomöostase für die Pathogenese, Therapie und Prophylaxe der obliterierenden Angiopathien,

in: Breddin, K.; Loew, D.; Überla, K.; Dorndorf, W.; Marx, R. (Hrsg.):

Prophylaxe zerebraler, kardialer, peripherer und venöser Gefäßkrankheiten mit Acetylsalicylsäure,

Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 37 - 45 (1981)

52. HIRSH, J.; GENT, M.; GENTON, E.:

The Current Status of Platelet Suppressive Drugs in the Treatment of Thrombosis

Thrombos. Diathes. haemorrh. 33, 406 - 416 (1975)

53. HLADOVEC, J.:

Antithrombotic Drugs and Experimental Thrombosis

Cor Vasa 20, 135 - 141 (1978)

54. HORATZ, K.; FREY, R.:

Die intravenöse Kurznarkose mit dem neuen

Phenoxyessigsäure - Derivat Propanidid (Eptanol)

Anaesthesist 13, 319 320 (1964)

55. JØRGENSEN, L.; PACKHAM, M. A.; ROWSELL, H. C.;

MUSTARD, J. F.:

Deposition of Formed Elements of Blood on the Intima

and Signs of Intimal Injury in the Aorta of Rabbit, Pig and Man

Lab. Invest. 27, 341 - 350 (1972)

56. JOHNSTONE, I. B.:

Comparative Effects of Phenylbutazone, Naproxen and

Flunixin Meglumine on Equine Platelet Aggregation and Platelet Factor 3 Availability in vitro

Can. J. Comp. Med. 47, 172 - 179 (1983)

57. JURNA, J.:
Analgetika
in: Forth, W.; Henschler, D.; Rummel, W.:
Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie,
2. Aufl.
Bibliographisches Institut, Mannheim - Wien - Zürich,
425 - 444 (1977)
58. KETTERL, R.; HAAS, S.; HEISS, A.; FRITSCH, H.-M.;
LECHNER, F.; Kienzle, H.; BLÜMEL, G.:
Zur Wirkung des natürlichen Proteinaseinhibitors
Aprotinin auf die Plättchenfunktion beim
alloarthroplastischen Hüftgelenkersatz
Med. Welt 33, 480 - 486 (1982)
59. KIRCHMAIER, C. M.; BENDER, N.; KALKAR, U.; KROPP, P.;
BREDDIN, K.:
Untersuchungen zur Charakterisierung des
hämostaseaktivierenden Gewebefaktors (HAF)
in: Blümel, G.; Haas, S.: Mikrozirkulation und
Prostaglandinstoffwechsel,
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 85 - 88, (1981)
- 60 KUMADA, T.; ISHIHARA, M.; OGAWA, H.; ABIKO, Y.:
Experimental Model of Venous Thrombosis in Rats and
Effect of some Agents
Thrombosis Research 18, 189 - 203 (1980)
- 61 LEHMANN, H. D.:
Vergleich der thrombozytenaggregationshemmenden Wirkung
von Acetylsalicylsäure, Dipyridamol und Sulfinpyrazon
in verschiedenen Tiermodellen
in: Breddin, K.; GROSS, D.; ROTTER, W., (Hrsg.):
Thrombosemodelle am Tier,
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 189 - 192 (1981)

62. LOELINGER, E. A.:
Drugs affecting blood clotting and fibrinolysis
in: Dukes, M. N. G., Ed., Side effects of drugs,
annual 1,
Excerpta Medica, Amsterdam - Oxford, 265 -269 (1977)
63. LOEW, D.:
Prophylaxe venöser Embolien mit Aggregationshemmern
in: Vinazzer, H. (Hrsg.): Thrombose und Embolien,
Verl. Springer, Berlin - Heidelberg, 205 - 212 (1981)
64. LOEW, D.:
Prophylaxe arterieller Verschlüsse durch Hemmung der
Thrombozytenaggregation
in: Vinazzer, H. (Hrsg.): Thrombose und Embolie
Verl. Springer, Berlin - Heidelberg, 274 - 290 (1981)
65. LÜSCHER, E. F.:
Pathophysiology of Arterial Thrombosis
Adv. Exp. Med. Biol. 164, 11 - 18 (1984)
66. MALLARKEY, G.; SMITH, G. M.:
In vivo platelet aggregation in the rat: dependence
on extracellular divalent cation and inhibition by
nonstereoidal anti-inflammatory drugs
Br. J. Pharmac. 81, 31 - 39 (1984)
67. MARSHALL, M.:
Rasterelektronenmikroskopische Befunde an kurzfristig
arteriell durchströmten Dacronprothesen
in: Breddin, K.; Gross, D.; Rotter, W. (Hrsg.):
Thrombosemodelle am Tier
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 65 - 73 (1981)

68. MARSHALL, M.:
Prüfung eines arteriellen In-vivo-Thrombosemodells am
Miniaturschwein anhand von morphologischen und humoralen
Parametern und deren Beeinflussung durch eine neue
thrombozytenfunktionshemmende Substanz
in: Breddin, K.; Gross, D.; Rotter, W. (Hrsg.):
Thrombosemodelle am Tier
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 89 - 97 (1981)
69. MAYHEW, I. G.; KRYGER, M. D.:
Aortic - Iliac - Femoral Thrombosis in a Horse
Vet. Med. / Small Anim. Clinic. 70, 1.281 - 1.284 (1975)
70. McMICHAH, J. C.; ROSENGARTEN, D. S.; McNEUR, J. C.;
PHILIPP, E.:
Das posttraumatische Lungensyndrom, Definition,
Diagnose und Therapie
Med. Welt 27, 2.331 - 2.340 (1976)
71. MELZER, G.:
Erfahrungen mit Acetylsalicylsäure, Dipyridamol und
Sulfinpyrazon in verschiedenen Tiermodellen
in: Breddin, K.; Gross, D.; Rotter, W. (Hrsg.):
Thrombosemodelle am Tier
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 193 - 199 (1981)
72. MELZER, G.:
Das präthrombotische Tier
in: Breddin, K.; Gross, D.; Rotter, W. (Hrsg.):
Thrombosemodelle am Tier,
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 49 - 63 (1981)
73. MENG, K.:
Tierexperimentelle Thrombose und Behandlung mit
Acetylsalicylsäure
Med. Welt 27, 1.359 - 1.362 (1976)

74. MENG, K.; SEUTER, F.:
Effect of Acetylsalicylic Acid on Experimentally
Induced Arterial Thrombosis in Rats
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 301, 115 - 119 (1977)
75. MERILLOT, L. A.:
Thrombosis of the Iliac Arteries in Horses
J. Am. Vet. Med. Assoc. 104, 218 - 220 (1944)
76. MERKENSCHLAGER, M.; HILLER, H. H.:
Schmerzensausschaltung bei Laboratoriumstieren
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 88, 289 - 295 (1975)
77. MEYER, F.; SANFORD, O. B.; FELIX, P.:
Experimental production of intra-arterial and
intravenous thrombi in the rabbit and rat
Am. J. Physiol. 199, 770 - 774 (1960)
78. MICHAELS, L.; GALBRAITH, P. A.; LEDWICH, J. R.:
A Clinical Trial of Antiplatelet Therapy in Patients
with Coronary Arterial Disease
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 34, 598 - 599 (1975)
79. NORDÖY, A.:
Experimental Venous Thrombosis in Rats
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 9, 427 - 435 (1963)
80. OGSTON, D.; BENNETT, B.:
Surface-Mediated Reactions in the Formation of
Thrombin, Plasmin and Kallikrein,
Br. Med. Bull. 34, 107 - 112 (1978)
81. OTT, D.:
Untersuchungen zur Blutgerinnung und Leukozytenzahl der
Ratte unter verschiedenen Narkosemethoden und
Blutentnahmetechniken
Vet. med. Diss., München (1981)

82. PARIS, J.; FOURNAU, P.; GRANERO, M.: VIENS, C.:
Anti-Thrombotic Effect of Very Low Doses of Acetyl
Salicylic Acid in Rats
Thromb. Res. 29, 313 - 321 (1983)
83. PHILP, R. B.:
Experimental Animal Models of Arterial Thrombosis and
the Screening of Platelet-Inhibiting, Anti-Thrombotic
Drugs: A Review
Meth. Find. Exptl. Clin. Pharmacol. 1, 197 - 224 (1979)
84. PHILP, R. B.; PAUL, M. L.; KILLACKEY, J. J.;
KILLACKEY, B. A.:
The Influence of Dose, Time of Administration, Body
Temperature and Salicylate Kinetics on the Antithrombotic
Action of Acetylsalicylic Acid in Male Rats
Haemostasis 13, 42 - 52 (1983)
85. POLIWODA, H.:
Der Einfluß von Veränderungen der Gefäßwand und der
Hämodynamik auf die Thrombogenese
in: Vinazzer, H. (Hrsg.): Thrombose und Embolie,
Verl. Springer, Berlin - Heidelberg, 28 -42 (1981)
86. POPOV-CENIC, S.:
Medikamentöse Thromboseprophylaxe
Med. Klinik 71, 1.221 - 1.234 (1976)
87. PRESCOTT, L. F.:
Antipyretics, Analgetics
in: Dukes, M. N. G.: Meyler's Side Effects of Drugs
Vol. VIII
Excerpta Medica, Amsterdam - Oxford, 155 - 206 (1976)
88. PUMPHREY, C. W.; FUSTER, V.; DEWANJEE, M. K.;
MURPHEY, K. P.; VLIETSTRA, R. E.; KAYE, M. P.:
A New In Vivo Model of Arterial Thrombosis: The Effect
of Administration of Ticlopidine and Verampil in Dogs
Thromb. Res. 28, 663 - 675 (1982)

89. REIMERS, H.-J.; MISERA, R.:
Prostaglandinstoffwechsel und Thrombogenese
in: Breddin, K.: Gross, D.; Rotter, W. (Hrsg.):
Thrombosemodelle am Tier,
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 217 - 229 (1981)
90. REUTER, H. D.:
The Stabilizing Effect of Trasylol on Platelet
Membrans,
Thrombos. Haemostas. 42, 298 (1979)
91. REUTER, H. D.:
Membranstabilisierung mit Aprotinin
in: Loo v. d., J.; Asbeck, F.: Haemostase, Thrombophilie
und Arteriosklerose,
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 564 - 567 (1982)
92. REUTER, H. D.:
Blutplättchen
Z. Allg. Med. 59, 311- 319 (1983)
93. RIS, H.:
Untersuchungen über Erkrankungen des arteriellen
Gefäßsystems des Pferdes
Schweiz. Arch. Tierheilk. 66, 1 - 14 u. 35 - 47 (1924)
94. SCHAUB, R. G.; GATES, K. A.; ROBERTS, R. E.:
Effect of aspirin on collateral blood flow after
experimental thrombosis of the feline aorta
Am. J. Vet. Res. 43, 1.647 - 1.650 (1982)
95. SCHMIDT, R.:
Eine neue Methode zur Erzeugung von Thromben durch Unter-
kühlung der Gefäßwand und ihre Anwendung zur Prüfung von
Acetylsalicylsäure und Heparin
Med. Diss., Gießen (1975)

96. SCHNEIDER, M. D.:
Role of the Blood Platelet in the Pathogenesis and
Complications of Experimental Myocardial Ischemia
Am. J. Vet. Res. 41, 1.447 - 1.452 (1980)
97. SCHREIBER, A. D.; KAPLAN, A. P.; AUSTEN, K. F.:
Inhibition by C1INH of Hageman Factor Fragments
Activation of Coagulation, Fibrinolysis and Kinin
Generation
J. Clin. Invest. 52, 1.402 - 1.409 (1973)
98. SCHULTZE, M.:
25 Jahre Proteinaseinhibitor Trasylol^R in Forschung
und Klinik
Klinikerzt 8, 83 -90 (1979)
99. SCHULZ, L. C.:
Kreislaufstörungen
in: Schulz, L. C. (Hrsg.): Lehrbuch der Allgemeinen
Pathologie
Verl. Enke, Stuttgart, 197 - 246 (1982)
100. SIEBERT, D. J.; BOCHNER, F.; IMHOFF, D. M.; WATTS, S.;
LLOYD, J. V.; FIELD, J.; GABB, B. W.:
Aspirin kinetics and platelet aggregation in man
Clin. Pharmacol. Ther. 33, 367- 374 (1983)
101. SWEDENBORG, J.; KOURIAS, E.; OLSSON, P.:
Coagulation Activity of Surface Activated Plasma in Vivo
Thromb. Res. 16, 231 - 237 (1979)
102. TOBER - MEYER, B.:
Vorschläge zur Narkose bei Kaninchen, Meerschweinchen
und kleinen Nagern
Kleintier-Praxis 22, 335 - 346 (1977)

103. VERSTRAETE, M.:
Haemostatic Agents
in: Dukes, M. N. G.: Meyler's Side Effects of Drugs,
Ninth Ed.
Excerpta Medica, Amsterdam - Oxford - Princeton,
614 - 617 (1980)
104. VINAZZER, H.:
Physiologie der Hämostase
in: Vinazzer, H. (Hrsg.): Thrombose und Embolie,
Verl. Springer, Berlin - Heidelberg, 14 - 26 (1981)
105. VOLGER, E.; THEISS, W.:
Antikoagulantien oder Thrombozyten-Aggregationshemmer
zur Prophylaxe eines Herzinfarkt-Rezidivs
Münch. med. Wschr. 125, 285 - 288 (1982)
106. WAGENAAR, G.; KRONEMAN J.:
Krankheiten der Blutgefäße
in: Wintzer, H. J. (Hrsg.): Krankheiten des Pferdes
Verl. Parey, Berlin - Hamburg, 98 - 100 (1982)
107. WEICHERT, W.; WIEDEMANN, R.; BREDDIN, K.:
Versuche zur Standardisierung eines Tiermodells:
Erzeugung laserinduzierter Thromben im Rattenmesenterium
in: Breddin, K.; Gross, D.; Rotter, W. (Hrsg.):
Thrombosemodelle am Tier, Verl. Schattauer,
Stuttgart - New York, 117 - 124 (1981)
108. WEISS, H. J.:
Antiplatelet Therapy
in: Koch-Weser, J.: Drug Therapy
N. Engl. J. Med. 298, 1.344 - 1.347 u. 1.403 - 1.406 (1978)
109. WINTZER, H.-J.; DÄMMRICH, K.:
Thrombose und Embolie
in: Schebitz, H.; Brass, W. (Hrsg.): Allgemeine
Chirurgie für Tierärzte und Studierende
Verl. Parey, Berlin - Hamburg, 366 - 367 (1975)

110. WOITINAS, F.:
Zum therapeutischen Wert der Aggregationshemmer
Med. Klin. 76, 692 - 698 (1981)
111. WUEPPER, K. D.:
Prekallikrein Deficiency in Man
J. Exp. Med. 183, 1.345 - 1.355 (1973)
112. ZIMMERMANN, R.:
Wirksamkeit antithrombotischer Substanzen an Modellen
arterieller und venöser Thrombosen am Kaninchen
in: Breddin, K.; Gross, D.; Rotter, W. (Hrsg.):
Thrombosemodelle am Tier
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 99 - 104 (1981)
113. ZIMMERMANN, R.; THIESSEN, M.; MÖRL, H.; HARENBERG, J.;
WECKESSER, G.:
Erfahrungen mit der Acetylsalicylsäure im Tiermodell
in: Breddin, K.; Gross, D.; Rotter, W. (Hrsg.):
Thrombosemodelle am Tier
Verl. Schattauer, Stuttgart - New York, 211 - 216 (1981)

LEBENS LAUF

Am 23. Januar 1958 wurde ich als erstes Kind des Schreiners Josef Lutter und seiner Ehefrau Philomena, geb. Baierlein, in Wernfels, Kreis Roth geboren.

Von 1964 bis 1968 besuchte ich die Volksschule in Theilenberg. Am Adam-Kraft-Gymnasium in Schwabach, das ich anschließend besuchte, erwarb ich 1977 die allgemeine Hochschulreife. Anschließend war ich Zivildienstleistender in der Medizinischen Klinik der Universität Erlangen-Nürnberg.

Im Wintersemester 1978 begann ich das Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians Universität in München, das ich im März 1984 mit dem dritten Abschnitt der Tierärztlichen Prüfung beendete.

Am 26. März 1984 erhielt ich die Approbation als Tierarzt. Seit 1. April 1984 bin ich in der tierärztlichen Praxis von Dr. L. Meyer in Hilpoltstein als Assistent beschäftigt.

Herrn Prof. Dr. med. G. Blümel, Leiter des Instituts für Experimentelle Chirurgie der Technischen Universität München, möchte ich für die Überlassung des Themas und Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in seinem Institut danken.

Herrn Prof. Dr. med. vet. U. Lösch möchte ich für die Übernahme der Arbeit in die Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität und für seine wissenschaftliche Beratung danken.

Frau Priv. Doz. Dr. med. Dr. med. habil. S. Haas und Herrn Priv. Doz. Dr. med. vet. Dr. med. habil. W. Erhardt gilt mein besonderer Dank für die Ratschläge zur Durchführung der Versuche und die Unterstützung bei der Abfassung des Manuskripts.

Allen Mitarbeitern des Instituts für Experimentelle Chirurgie der Technischen Universität München möchte ich für die freundliche Zusammenarbeit und Unterstützung danken, insbesondere Frau Dr. med. vet. Geisdörfer und Frau I. Eberl.

